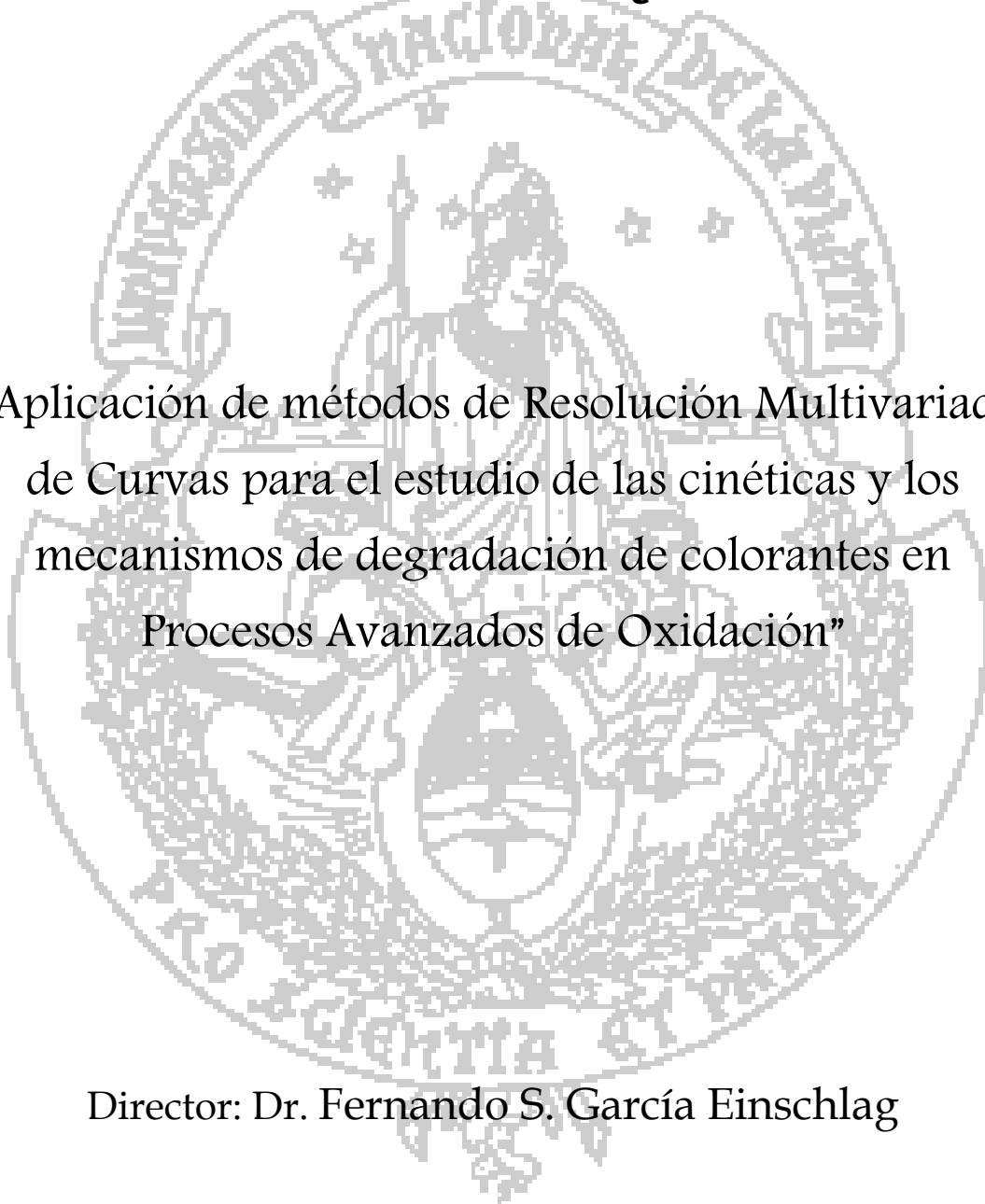


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA



“Aplicación de métodos de Resolución Multivariada
de Curvas para el estudio de las cinéticas y los
mecanismos de degradación de colorantes en
Procesos Avanzados de Oxidación”

Director: Dr. Fernando S. García Einschlag

Ing. Mariana R. Costante



El presente trabajo de Tesis se realizó en el Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) bajo la dirección del Dr. Fernando S. García Einschlag. Se presenta a consideración de las autoridades de la Facultad de Ciencias Exactas, de la Universidad Nacional de La Plata a fin de acceder al Grado Académico de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas. Marzo 2017

A mi abuela Ada

*Su enseñanza acerca de que “el saber
no ocupa lugar” dio sus frutos.*

Tabla de contenidos

Agradecimientos	XIII
-----------------	------

Parte I

Capítulo 1: Introducción

1.1 Problemática del Agua	5
1.2 Los Colorantes	7
1.2.1 Teoría del color	7
1.2.2 Estructura general de los colorantes	9
1.2.3 Clasificación de colorantes	11
1.3 Selección de los colorantes usados y características generales	12
1.3.1 Negro Ácido 1	12
1.3.2 Naranja G	13
1.3.3 Alizarina Roja S	14
1.4 Impacto ambiental por el uso de colorantes	16
1.5 Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs)	16
1.6 Procesos Fenton y relacionados	18
1.6.1 Parámetros generales que influyen en el proceso Fenton	20
1.6.2 Ventajas y desventajas del proceso Fenton y relacionados	22
1.7 Espectroscopía de fluorescencia Molecular	24
1.7.1 Variables que afectan la fluorescencia	26
1.7.2 Instrumentación	29
1.8 Aplicación de técnicas quimiométricas para el estudio cinético de la decoloración de colorantes en sistemas tipo-Fenton.	30
1.9 Objetivos	31
1.10 Bibliografía	33

Capítulo 2: Materiales y Métodos

2.1 Parte I: Reactivos y técnicas analíticas	39
2.1.1 Reactivos	39

2.1.2 Determinaciones Analíticas	39
2.1.2.1 Espectrofotometría UV-Vis	39
2.1.2.2 Cromatografía líquida con detección espectrofotométrica	41
2.1.2.3 Determinación de H ₂ O ₂	43
2.1.2.4 Determinación de Carbono Orgánico Total (TOC)	44
2.1.2.5 Determinación del pH	45
2.1.2.6 Espectrofluorimetría	46
2.2 Parte II: Técnicas numéricas	48
2.2.1 Diseño Estadístico de Experimentos y Metodología de Superficie de Respuesta	48
2.2.1.1 Diseño experimental para mezclas	54
2.2.2 Aplicación de herramientas de análisis multivariado	58
2.2.2.1 Resolución Multivariada de Curvas por cuadrados mínimos alternados (MCR-ALS)	59
2.2.2.2 Análisis paralelo de factores	67
2.3 Bibliografía	73

Capítulo 3: Ensayos preliminares

3.1 Comportamiento frente al pH	79
3.2 Estudios de complejación	80
3.3 Estudio cromatográfico	81
3.4 Análisis cinético preliminar	83
3.5 Conclusiones	84
3.6 Bibliografía:	85

Parte II

Capítulo 4: Proceso tipo-Fenton. Tratamiento de soluciones con un solo colorante

4.1 Introducción	91
4.2 Materiales y métodos	93
4.2.1 Reactivos y técnicas analíticas	93

4.2.2 Métodos	93
4.2.2.2 Espectroscopía de fluorescencia	95
4.3 Resultados y discusión	95
4.3.1 Comportamiento espectral	95
4.3.2 Estudios cinéticos	99
4.3.2.1 Espectroscopia de absorción UV-Visible	99
4.4.3.2 Carbono orgánico total	104
4.4.3.3 Consumo de H ₂ O ₂	105
4.4.3.4 Espectroscopía de fluorescencia. Matrices de Excitación Emisión (EEM)	107
4.4 Conclusiones	116
4.5 Bibliografía	119

Capítulo 5: Proceso tipo-Fenton. Tratamiento de soluciones con mezclas de colorantes

5.1 Introducción	123
5.2 Materiales y métodos	123
5.3 Resultados y discusión	123
5.3.1 Mezclas binarias	123
5.3.1.1 Comportamiento espectral	123
5.3.1.2 Estudio cinético de la mezcla AB & OG	127
5.3.1.3 Estudio cinético de las mezclas AB & AR y AR & OG	129
5.3.2 Mezcla ternaria	131
5.3.2.1 Comportamiento espectral	131
5.3.2.2 Estudio cinético	132
5.3.2.3 EEM correspondientes a la decoloración de la mezcla ternaria	135
5.4 Conclusiones	138
5.5 Bibliografía	141

Capítulo 6: Proceso foto-Fenton. Tratamiento de soluciones con mezclas de colorantes

6.1 Introducción	145
6.2 Materiales y métodos	146

6.2.1 Reactivos y técnicas analíticas	146
6.2.2 Fotorreactor	146
6.2.3 Metodología	147
6.3 Resultados:	149
6.4 Conclusiones	157
6.5 Bibliografía	159

Parte III

Capítulo 7: Resolución Multivariada de Curvas por cuadrados mínimos alternados (MCR-ALS)

7.1 Introducción	165
7.2 Aplicación de MCR-ALS al estudio de colorantes individuales	167
7.2.1 Metodología	167
7.2.2 Resultados:	168
7.2.2.1 Empleo del algoritmo MCR-ALS con las restricciones existentes	168
7.2.2.2 Estudio cinético de la decoloración del AB	172
7.2.2.3 Estudio cinético de la decoloración del OG	177
7.2.2.4 Estudio de complejación y análisis cinético de la decoloración de la AR	181
7.3 Aplicación de MCR-ALS al estudio de mezclas binarias	186
7.3.1 Metodología	186
7.3.2 Resultados	187
7.3.2.1 Perfiles espectrales calculados para la mezcla AB & OG	188
7.3.2.2 Perfiles espectrales calculados para la mezcla AB & AR	189
7.3.2.3 Perfiles espectrales calculados para la mezcla OG & AR	190
7.3.2.4 Análisis de los perfiles de concentraciones de las mezclas binarias	191
7.3.2.5 Comparación entre las estimaciones de los perfiles cinéticos	193
7.4 Aplicación de MCR-ALS al estudio de las mezclas ternarias	194
7.4.1 Metodología	194
7.4.2 Resultados	194
7.4.3 Comparación de los perfiles cinéticos	197
7.5 Conclusiones	198
7.6 Bibliografía	200

Capítulo 8: Análisis de Factores Paralelos (PARAFAC)

8.1 Introducción	203
8.2 Metodología	203
8.2.1 Pretratamiento de las EEM	203
8.2.2 Estimaciones iniciales y aplicación del algoritmo	205
8.3 Resultados	206
8.3.1 PARAFAC en la decoloración del AB	206
8.3.2 PARAFAC en la decoloración del OG	209
8.3.3 PARAFAC en la decoloración del AR	212
8.3.4 PARAFAC en la decoloración de la mezcla ternaria de los colorantes estudiados	215
8.4 Conclusiones	217
8.5 Bibliografía	219
Conclusiones generales	221
Anexo I: Conjunto de Interfaces gráficas para la implementación del algoritmo MCR-ALS con las restricciones tradicionalmente empleadas.	223
Anexo II: Suavización de los perfiles utilizando la metodología de filtros de Savitzky-Golay	225
Anexo III: Condiciones experimentales de la mezcla binaria AB & AR	227
Anexo IV: Condiciones experimentales de la mezcla ternaria	229

Agradecimientos

Durante los cinco años que demandó este trabajo de tesis, conté con el apoyo tanto profesional como humano de una gran cantidad de personas e instituciones, a las cuales les debo mi agradecimiento.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), al Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA) y a la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) por darme la posibilidad de ingresar al sistema científico, por otorgarme los medios y el espacio físico para el desarrollo de mi tesis.

A mi director, Dr. Fernando S. García Einschlag, cuyos conocimientos, orientaciones, confianza, paciencia y calidad humana han sido fundamentales para mi formación. Gracias “Jefe”.

A los PAO's: Andrés, Bruno, Eliana, Federico y Sofía. Se merecen muchas y buenas palabras ya que con ellos he compartido oficina, laboratorio e incontables horas de trabajo y esparcimiento. Por todo el tiempo que me han dado, por su amistad y compañerismo en todos los aspectos de la vida, muchas gracias.

A los compañeros de piso: Iván, Alejandra, Fabricio, Chino, Ezequiel, Yanina, Marcela, Paula C, Andrea, Adriana, Mariana S., Mariana V., Laura, Sandra, Francisca, Damián, Gaby, M. Laura, Mónica y Daniel que de una manera u otra han sido claves en mi vida profesional y por extensión, en la personal.

A los directores del grupo de Fotoquímica y Fotobiología Molecular del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH), Dr. Franco Cabrerizo y a la Dra. Paula Denofrio que me permitieron utilizar sus equipos, laboratorios, y sobre todo, me hicieron sentir parte de su grupo. A los demás integrantes, Lis, Mica, Gaby y Carlos que propiciaron que mis estadías sean productivas y divertidas al mismo tiempo.

A la Dra. Mirifico por estar siempre dispuesta a transmitirme sus conocimientos y a Ethel por sus consejos.

A mis hijos Tomás y Mateo que crecieron escuchando palabras como “radical hidroxilo”, “Fenton” y “PARAFAC” entre otras, quiero darles las gracias por soportar

mis largos monólogos tratando de explicarles en que consiste el trabajo de mamá, y sobre todo, por enseñarme a ver el mundo de otra manera. Los amo con todo mí ser.

A mi compañero de vida, Fernando, que de forma incondicional entendió mis ausencias y mis malos momentos. Su apoyo y amor fueron muy importantes siempre, y más aún en la etapa final de este trabajo.

A mi mamá Beatriz, a Cachi y a mi hermana Erika que confiaron siempre en mi capacidad, estuvieron siempre dispuestos a aguantar mi locura y me ayudaron en todo momento. Gracias

Y por último, pero no por eso menos importante, quiero agradecerle a mi gran amiga y hermana de la vida Jezabel, por las largas horas de charla, por su amistad y por los buenos momentos vividos durante todos estos años.

A todos ellos muchísimas gracias.

PARTE I

INTRODUCCIÓN

MATERIALES Y MÉTODOS

ENSAYOS PRELIMINARES

“Considero más valiente al que conquista sus deseos que al que conquista a sus enemigos, ya que la victoria más dura es la victoria sobre uno mismo”

Aristóteles



CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Problemática del Agua

El agua es un elemento de gran importancia en los ecosistemas naturales, fundamentalmente para el sostenimiento y la reproducción de la vida en el planeta ya que constituye un factor indispensable para el desarrollo de los procesos biológicos que la hacen posible. Representa entre el 50 y el 90 % de la masa corporal de los seres vivos, siendo un 75 % en el caso de los seres humanos y llegando hasta el 90 % en el caso de las algas. Por tanto, es indispensable para la supervivencia y desarrollo de los distintos organismos.

Si bien esta sustancia ocupa el 71 % de la superficie terrestre, es decir, cerca de las tres cuartas partes de nuestro planeta está cubierta por de agua, su distribución y su difícil accesibilidad para ser utilizada supone un problema para el desarrollo de la vida. De la cantidad total de agua que hay en el planeta, casi el 97 % es agua salada y del 3 % correspondiente al agua dulce, aproximadamente 79 % se encuentra en forma de hielo en los glaciares y casquetes polares, y solo el 21% de este elemento esencial para el desarrollo de las especies se encuentra mayormente en ríos, lagos, y aguas subterráneas. Figura 1.1

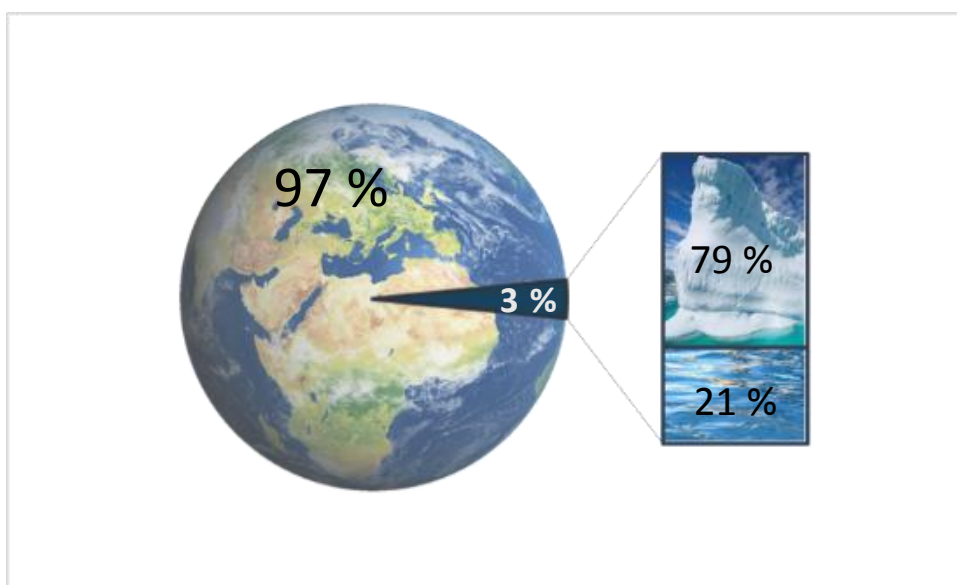


Figura 1.1: Distribución del agua en el planeta

A inicios del siglo pasado la población mundial rondaba los 1.600 millones, la actividad industrial tenía un crecimiento moderado, generando pocos desechos industriales, y la actividad agropecuaria era libre de abonos químicos y

Introducción

plaguicidas. Actualmente la población global supera los 7400 millones de personas, la industria ha tenido un crecimiento exponencial al igual que los vertidos industriales, y la expansión/desarrollo de la agricultura se ha basado fuertemente en el uso de fertilizantes y agroquímicos.

La evaluación realizada por el proyecto GIWA (Global International Waters Assessment) plasmada en su reporte final "Challenges to International Waters: Regional Assessments in a Global Perspective" ^[1] en el año 2006, indica detalladamente como la presión de las actividades humanas a escala global, a través del sobreuso del recurso y de la contaminación, está deteriorando la capacidad de los ecosistemas acuáticos para cumplir con sus funciones esenciales, lo que perjudica la calidad de vida y el desarrollo de todos los seres vivos.

Muchas industrias, como la papelera, textil y siderúrgica, necesitan agua para desarrollar su actividad. La secuela es el vertido de aguas residuales cargadas de materia orgánica, metales y aceites industriales entre otros contaminantes. Como consecuencia de la capacidad que posee el agua de transportar gran cantidad de sustancias, ya sea en forma disuelta o como material en suspensión, junto con su movilidad y ubicuidad, la contaminación de una fuente de agua, aunque se realice en una ubicación puntual, tiene repercusión a largas distancias y por lo tanto afecta regiones de gran extensión.

Los productos tóxicos presentes en los efluentes industriales son muy variados, tanto en tipo como en cantidad, y su composición depende principalmente de la actividad que realice dicha industria. Los desechos que contienen los efluentes pueden ser de naturaleza química y/o biológica, y en algunos casos son emitidos a temperaturas superiores a la temperatura ambiente, constituyendo un elemento más de contaminación.

En Argentina, las aguas subterráneas han tenido un papel fundamental, particularmente en el desarrollo socioeconómico de las regiones áridas y semiáridas, como fuente de abastecimiento a la población, la industria y el riego. Más del 11 por ciento de la extracción hídrica total nacional es utilizado por el sector industrial, y solo en el Gran Buenos Aires, los vertidos industriales a ríos y arroyos se estiman en aproximadamente 300.000 t/año de residuos peligrosos, 250.000 t/año de barros tóxicos, 500.000 t/año de solventes diluidos y 500.000 t/año de efluentes con metales pesados. La gran mayoría de estos vertidos son coloreados y poseen una gran carga de materia orgánica.^[2]

Si bien el límite máximo de color para vertidos industriales en cuerpos de aguas difiere de acuerdo a la normativa de cada país, se ha adoptado dicho valor entre

50 y 75 PCU (unidades de color platino cobalto) lo que equivale al color producido por soluciones de 50 y 75 mg / L de platino en forma de ion cloroplatinato (PtCl_6^-), respectivamente.^[3]

1.2 Los Colorantes

Desde las primeras civilizaciones el hombre usó materias colorantes naturales. Los pigmentos o sustancias coloreadas se extraían de plantas, animales y minerales. Estas materias eran empleadas para teñir ropas, pintar las pieles y fabricar objetos religiosos y recreativos.

Los colorantes son sustancias orgánicas que se conocen comúnmente en forma de tintes o pigmentos de color intenso que imparten color a una sustancia incolora, o bien, a un sustrato por medio de una absorción selectiva de la luz.^[4]

1.2.1 Teoría del color

El color que presenta una sustancia es realmente el complementario de la radiación que absorbe, ya que corresponde a la radiación que refleja. La relación entre la radiación absorbida y el color reflejado por una sustancia se muestra en la tabla 1.1.

Longitud de onda (nm)	Radiación absorbida	Color observado
< 400 nm	Zona UV (incoloro)	Incoloro
400-430	Violeta	Verde-Amarillo
430-480	Azul	Amarillo
480-490	Verde-Azul	Naranja
490-510	Azul-Verde	Rojo
510-530	Verde	Purpura
530-570	Amarillo-Verde	Violeta
570-580	Amarillo	Azul
580-600	Naranja	Verde-Azul
600-670	Rojo	Azul-Verde
670-700	Purpura	Verde
> 700 nm	Zona IR (incoloro)	Incoloro

Tabla 1.1: Relación entre la radiación absorbida y el color reflejado

Introducción

Si el contenido energético de la radiación incidente se corresponde con la diferencia de la energía entre un nivel energético ocupado por un electrón y otro vacío, puede producirse una transición electrónica entre el estado fundamental y el correspondiente estado excitado (figura 1.2); es decir, la percepción del color está asociada con transiciones electrónicas entre niveles permitidos. Posteriormente, el sistema puede volver al estado fundamental mediante diversos mecanismos de relajación, liberando el exceso de energía, ya sea en forma no radiativa (calor) o en forma radiativa (fluorescencia o fosforescencia).

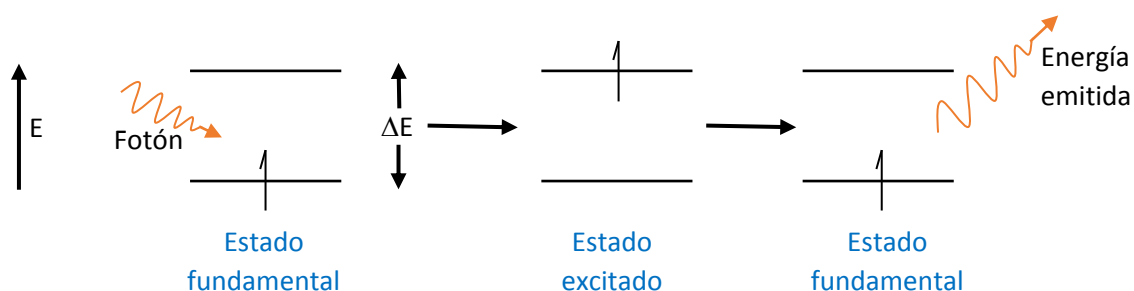


Figura 1.2: Transiciones electrónicas inducidas por la absorción de energía.

En una molécula orgánica, los electrones que participan en las transiciones electrónicas en presencia de radiación UV-Vis son los que forman parte de los enlaces (simples, dobles, triples), así como los pares de electrones no compartidos presentes en los heteroátomos (N, P, O, S, halógenos), pero no los electrones más internos, ya que estos requieren una energía mucho mayor para ser excitados. Así pues, las transiciones electrónicas que son relevantes para la absorción de la radiación en la región UV-Vis del espectro se producen desde orbitales moleculares enlazantes (σ o π) o de no enlace (n) hasta orbitales moleculares antienlazantes (σ^* o π^*), siendo el orden de energía el mostrado en la figura 1.3.

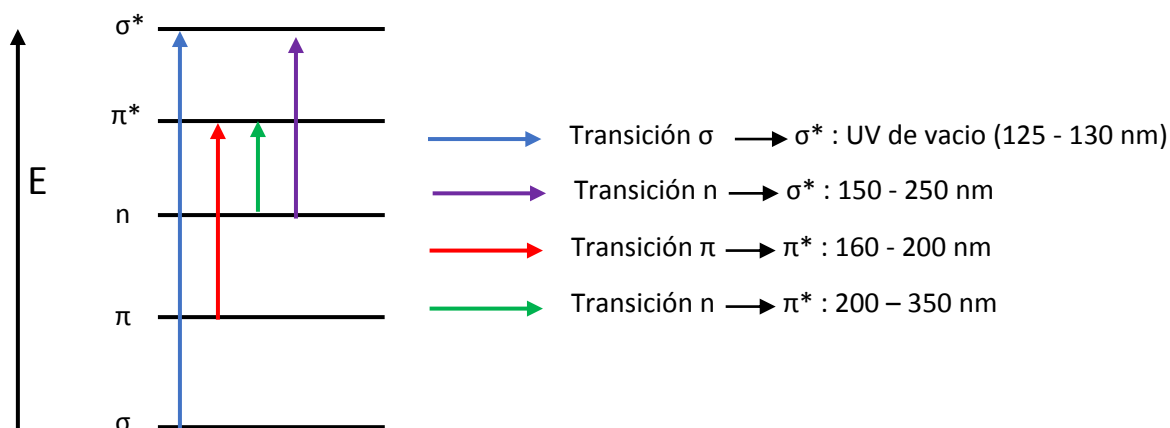


Figura 1.3: Transiciones electrónicas relevantes para el color.

1.2.2 Estructura general de los colorantes

Como puede observarse en la figura 1.3, ninguna de las transiciones mostradas tiene lugar en la región visible del espectro electromagnético; es decir, cualquiera de estas transiciones darían lugar a compuestos incoloros. No obstante, la existencia de un sistema conjugado en una molécula hace disminuir la energía necesaria para llevar a cabo las transiciones electrónicas que involucran orbitales π . Como consecuencia, si la conjugación es suficientemente extendida, el compuesto absorbe radiación en el espectro visible y, por tanto, es coloreado. De esta manera, los compuestos orgánicos coloreados están constituidos por grupos de átomos que contienen enlaces múltiples conjugados y/o anillos aromáticos, llamados cromóforos. Además el comportamiento espectroscópico de los sistemas conjugados puede ser modificado por la presencia de sustituyentes tales como grupos hidroxilos, nitro y aminos. Estos grupos se denominan auxocrómicos.

En la tabla 1.2 se presentan diferentes grupos cromóforos responsables de la absorción de la luz visible, mientras que en la tabla 1.3 se muestran los distintos grupos auxocrómicos. Los grupos auxocrómicos le dan afinidad por la fibra e intensifican el color, pudiendo producir un efecto batocrómico o hipsocrómico. El efecto batocrómico consiste en el desplazamiento de la radiación absorbida hacia valores mayores de λ (menor energía) o, lo que es lo mismo, el desplazamiento de la radiación reflejada hacia valores menores de λ , lo que se traduce en un desplazamiento del color hacia la zona azul del espectro visible. Lo producen los grupos que poseen pares de electrones no enlazantes (amino, hidroxilo, halógeno, etc.), capaces de extender el sistema conjugado como donadores de electrones. El efecto hipsocrómico es justo lo contrario, y se traduce en un desplazamiento del color hacia la zona amarilla del espectro visible.

Introducción

Lo producen los grupos que atraen electrones por resonancia (nitro, carboxilo, éster, etc.).^[5]

Clase de enlace cromóforo	Fórmula molecular general
Azo	$R^1-N=N-R^2$
Nitro	
Azoxi	
Nitroso	
Tiocarbonilo	
Antraquinonico	
Indolico	
Triarilmetano	

Tabla 1.2: Principales grupos cromóforos.

Clase de enlace auxocromo	Fórmula molecular general
Diazonio	$\text{R}-\text{N}^+\equiv\text{N}$
Acetilo	$\text{R}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$
Hidroxilo	$\text{R}-\text{OH}$
Sulfonilo	$\text{R}-\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$
Amino	$\text{R}-\text{NH}_2$
Amino monosustituido	$\text{R}^1-\text{NH}-\text{R}^2$

Tabla 1.3: Principales grupos auxocrómicos

1.2.3 Clasificación de colorantes

Existen diversas formas de clasificar a este grupo tan heterogéneo de moléculas orgánicas, según su origen podemos dividirlos en naturales y sintéticos o artificiales. A estos últimos se los puede clasificar a su vez según sus propiedades químicas en: colorantes básicos, utilizados para la tinción de estructuras ácidas, colorantes ácidos que por el contrario tiñen sustancias básicas, y colorantes neutros en donde tanto el grupo ácido como el básico son activos. Como se muestra en la figura 1.4 la familia de compuestos coloreados se puede subclasificar tanto por su modo de aplicación como por su procedencia.

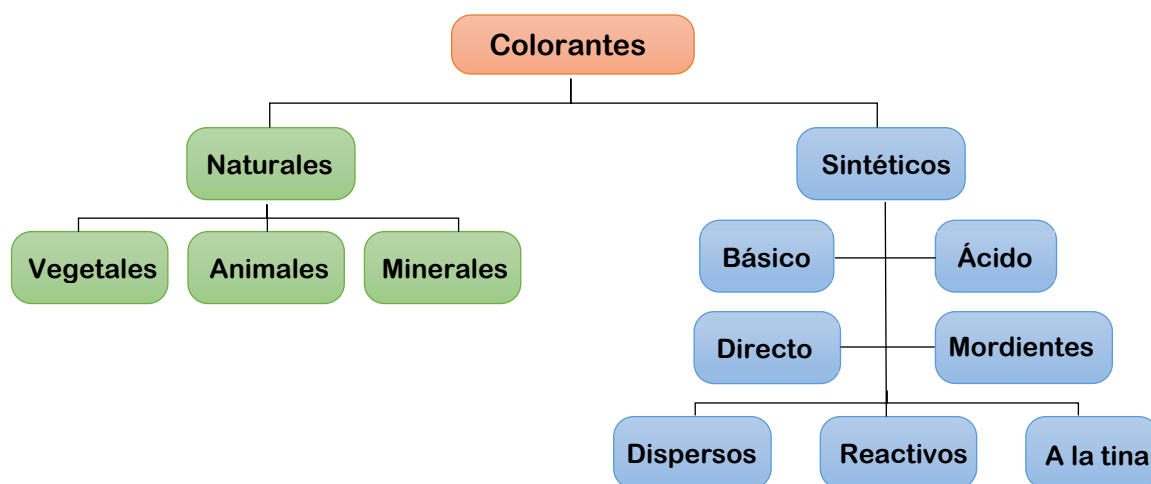


Figura 1.4: Clasificación de los colorantes

1.3 Selección de los colorantes usados y características generales

Los colorantes utilizados en el presente trabajo de Tesis son el Negro Ácido 1, el Naranja G y la Alizarina Roja S, a los cuales de aquí en adelante se los referenciará con las siglas AB, OG y AR, respectivamente. La selección de dichos colorantes, se realizó en base al comportamiento cromatográfico y a las características distintivas de sus espectros UV-vis. A continuación se realizará una breve descripción de cada uno de ellos.

1.3.1 Negro Ácido 1

Conocido también como Amido Black 10B o Naphthol Blue Black, es un colorante ácido, sintético y diazoico, que contiene como grupos cromóforos C=C conjugados y N=N. Su designación química, según IUPAC, es sal disódica del ácido 4-amino-5-hidroxi-3-[(4-nitrofenil)azo]-6-(fenilazo)-2,7-naftalenodisulfónico.

Tiene diversas aplicaciones, entre las más importantes se pueden enumerar las siguientes:

1. Teñido de todo tipo de fibras naturales y sintéticas
2. Se utiliza en pinturas, tintas, plásticos y cuero
3. En ensayos bioquímicos para la tinción de proteínas.
4. Para el revelado de huellas dactilares.

En lo que respecta a la toxicidad de este colorante, se conoce que es tóxico por ingestión, su inhalación causa irritación y daño al tracto respiratorio. Los síntomas a la exposición del Negro Ácido 1 pueden incluir tos y dificultad para respirar. El contacto repetido con la piel provoca el teñido y también pueden desarrollar quemaduras, erupciones con enrojecimiento, dolor e irritación en los ojos. Incluso la cantidad traza de colorante presente en los sistemas vivos puede causar varios problemas de salud a humanos, así como en animales. ^[6]

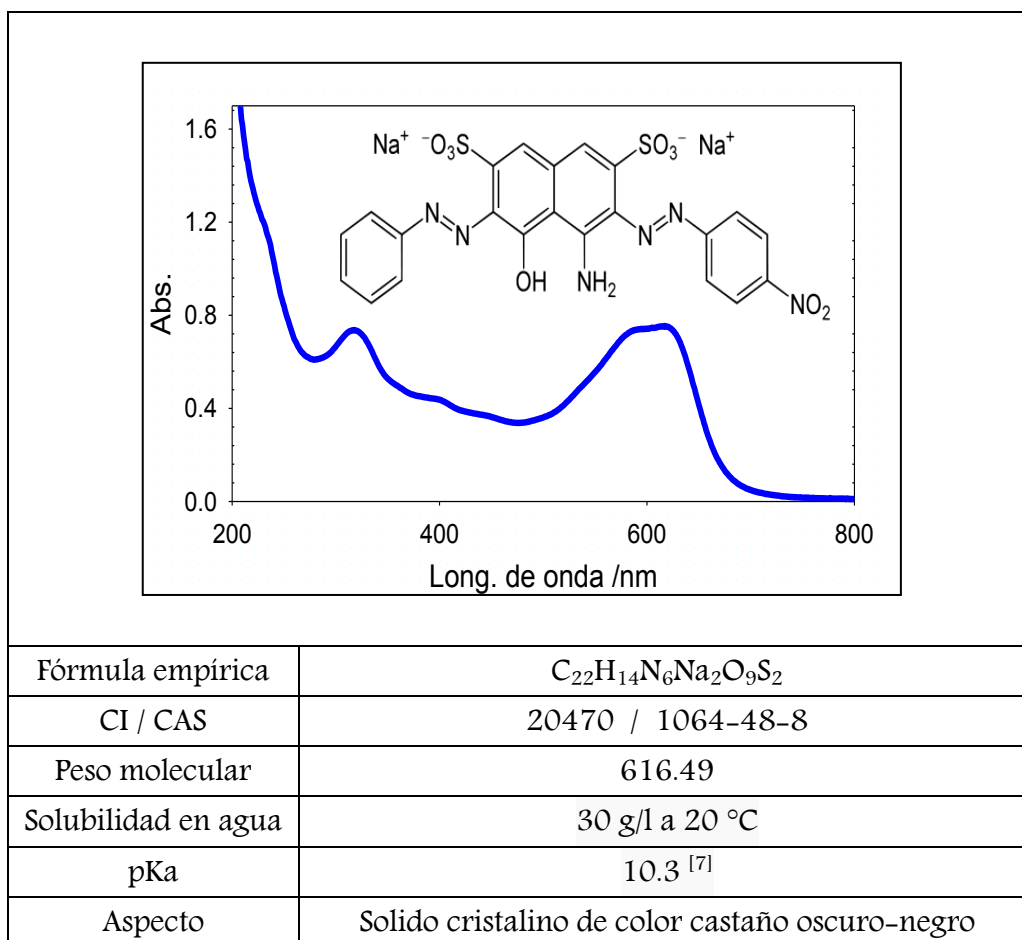


Tabla 1.4: Principales características del Negro Ácido 1

1.3.2 Naranja G

El Naranja G, también llamado Naranja Ácido 10, es un colorante ácido, sintético y azoico. Al igual que el Negro Ácido 1 contiene como grupos cromóforos C=C conjugados y N=N. Su designación química, según IUPAC, es sal disódica del ácido 1-fenilazo-2-naftol-6,8-disulfónico.

Introducción

Su principal utilización es como tinte histológico, aunque también es utilizado para la tinción de fibras textiles, plásticos y en fotografía. Este colorante es nocivo para el tracto respiratorio si es inhalado, y por contacto puede provocar irritación en ojos y piel, además ha demostrado ser toxico para roedores, cerdos y fauna acuática.^[8-10]

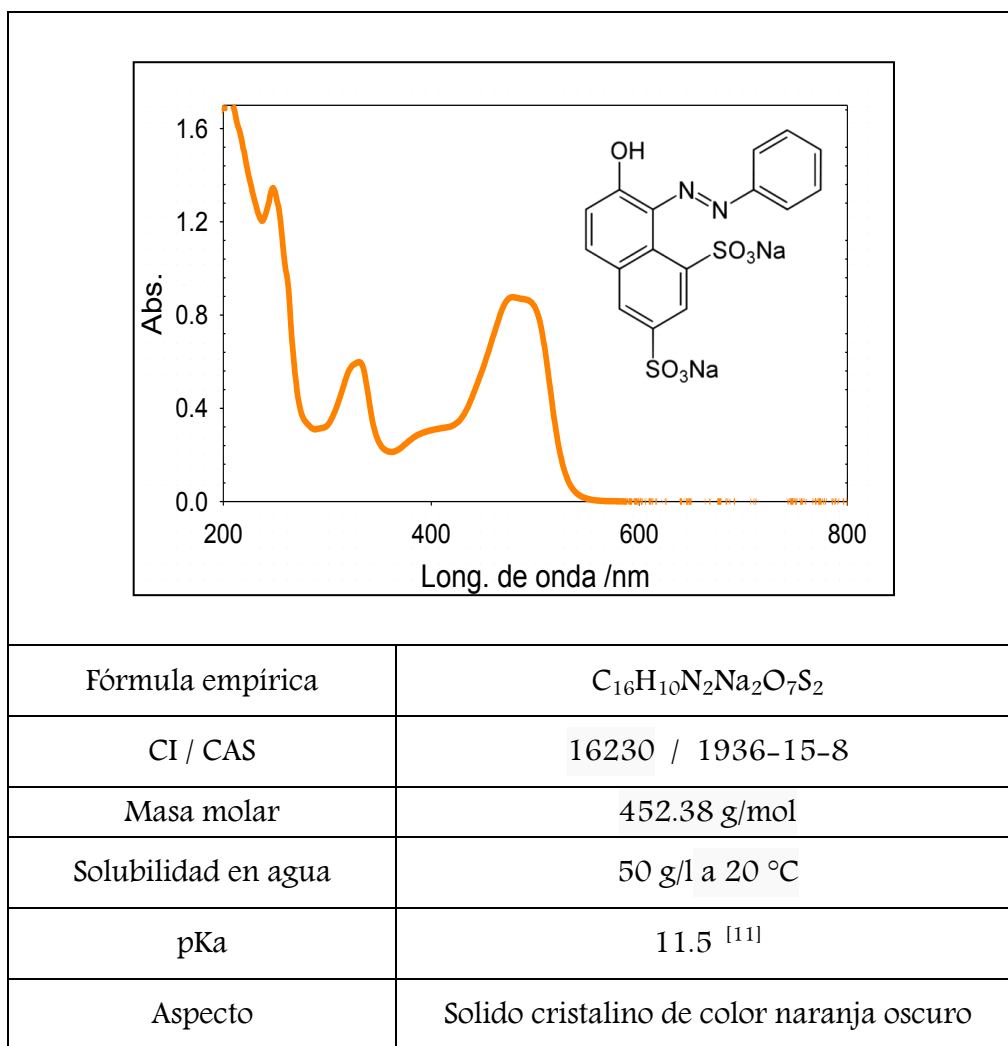


Tabla 1.5. Principales características del Naranja G

1.3.3 Alizarina Roja S

Es un colorante antraquinónico, tipo mordiente, debido a que su grupo α -OH, reacciona con los iones metálicos formando complejos cuyo color varía con el catión empleado y las condiciones de reacción.^[12]

Es un compuesto orgánico que ha tenido un rol destacado como tinte para algodón, lana y seda. Además se lo utiliza como indicador ácido-base (amarillo a $\text{pH} \leq 5.5$ y rojo a $\text{pH} \geq 6.8$).^[12]

En la práctica clínica es utilizado para teñir el líquido sinovial y analizar el contenido de cristales básicos de fosfato de calcio. En el ámbito de la geología, es utilizado para la detección de minerales como el carbonato de calcio, calcita y aragonita.^[13,14]

Este colorante está considerado citotóxico, carcinogénico y genotóxico.^[10]

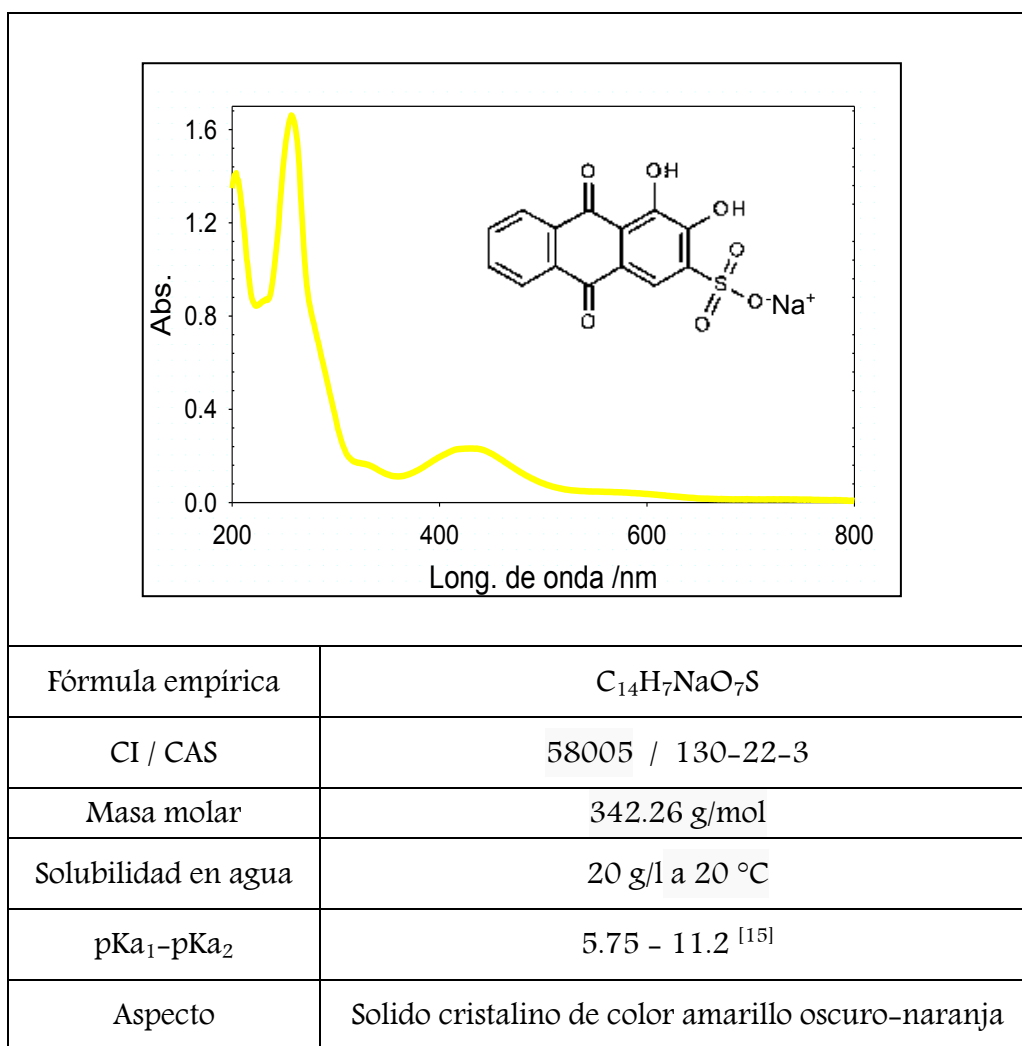


Tabla 1.6. Principales características de la Alizarina Roja S.

1.4 Impacto ambiental por el uso de colorantes

En la actualidad el empleo de colorantes sintéticos ha aumentado en forma exponencial. Los más utilizados en la industria son los colorantes azoicos y antraquinónicos. Su vertido, incluso en bajas concentraciones, produce una intensa coloración que tiene un fuerte impacto ambiental, no sólo por su contaminación visual sino también porque la naturaleza tóxica de muchos colorantes provoca genotoxicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad y hasta la mortandad de seres vivos. En consecuencia, su tratamiento y eliminación de las aguas residuales antes de su vertido a los cuerpos de agua es imprescindible.^[16]

Existen distintas metodologías para el tratamiento de aguas contaminadas que, según la naturaleza del agente activo y del cambio que provoquen en el efluente, se clasifican en biológicos (biorremediación), químicos (cloración, oxidación térmica, iodación, etc) y físicos (sedimentación, flotación, filtración, etc.). Estas técnicas suelen aplicarse en forma combinada en plantas depuradoras de efluentes industriales y urbanos para procesar eficientemente aguas contaminadas por la actividad humana. Sin embargo, existen diversos compuestos químicos xenobióticos que, por su complejidad estructural, no logran ser removidos por las plantas de tratamiento convencionales. En consecuencia, durante las últimas décadas, se han estudiado y desarrollado diferentes alternativas de tratamiento entre los cuales se encuentran los denominados procesos avanzados de oxidación (PAOs).^[16]

1.5 Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs)

El concepto PAOs fue inicialmente introducido en 1987 por Glaze y Chapin^[17,18], quienes definieron estas técnicas como procesos que involucran la generación de especies altamente reactivas, capaces de iniciar la oxidación de una amplia serie de contaminantes. La especie reactiva más importante asociada a los PAOs es el radical hidroxilo ($\text{HO}\cdot$), cuyo potencial estándar de reducción es de 2.8 V, es decir, es la especie más reactiva luego del átomo de flúor.^[19] Este radical posee propiedades adecuadas para atacar a la mayoría de los compuestos orgánicos y reaccionar 10^6 – 10^{11} veces más rápido que otros oxidantes alternativos tales como el O_3 ^[20]. Distintos estudios afirman que las constantes de velocidad para la mayoría de las reacciones que involucran radicales $\text{HO}\cdot$ en soluciones acuosas son usualmente del orden de 10^6 – $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.^[21,22]

Desde un punto de vista económico, los PAOs son sustancialmente más costosos que los tratamientos biológicos. Sin embargo, son especialmente útiles como “pretratamiento” de un tratamiento biológico o como proceso de “postratamiento” para efectuar un pulido de las aguas antes de la descarga a los cuerpos receptores [23–25]

Dependiendo del estado de agregación del sistema generador de radicales $\cdot\text{OH}$ los PAOs se pueden clasificar en heterogéneos y homogéneos. Si bien los primeros tienen como ventaja la posibilidad de separación del catalizador del medio de reacción, poseen las limitaciones asociadas a la transferencia de materia inherente a los sistemas con más de una fase.

Procesos Homogéneos			
Sin aporte externo de energía	Con aporte externo de energía		
*Ozonización en medio alcalino (O_3/OH^-) *Ozonización con peróxido de hidrógeno ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ y $\text{O}_3/\text{OH}^-/\text{H}_2\text{O}_2$) *Peróxido de hidrógeno y catalizador (reacción Fenton, tipo Fenton y relacionados: $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{3+}$, $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Cu}^{2+}$, etc.).	Radiación ultravioleta	Ultrasonido	Electroquímica
	* Fotólisis directa (UV) * Fotólisis del agua en ultravioleta de vacío (UVV) * Ozonización y radiación ultravioleta (O_3/UV) * Peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) * Ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) * Catalizador, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta (Foto-Fenton: $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{Fe}^{3+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, $\text{Cu}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, etc.).	* Ozonización y ultrasonido (O_3/US) * Peróxido de hidrógeno y ultrasonido ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{US}$)	* Radiólisis y tratamiento con haces de electrones

Tabla 1.7. Clasificación y principales Procesos de Oxidación Avanzada (PAOs)

Procesos Heterogéneos		
Sin aporte externo de energía	Con aporte externo de energía	
* Ozonización catalítica (O ₃ /Cat) * Fenton heterogéneo (Fe ⁰ /Fe ₃ O ₄ /H ₂ O ₂ , Fe ₂ O ₃ /H ₂ O ₂ , FeZSM-5/H ₂ O ₂ , etc.)	Radiación ultravioleta	Electroquímica
	* Fotocatálisis heterogénea (TiO ₂ /UV, ZnO/UV, etc) * Fotocatálisis heterogénea con peróxido de hidrógeno (TiO ₂ /H ₂ O ₂ /UV) * FotoFenton heterogéneo (β-FeOOH/resina/H ₂ O ₂ /UV, Fe(III)/zeolita/H ₂ O ₂ /UV, etc.) *Ozonización fotocatalítica (O ₃ /TiO ₂ /UV)	* Oxidación anódica * Oxidación electroquímica

Tabla 1.7 (continuación). Clasificación y principales Procesos de Oxidación Avanzada (PAOs)

Las principales ventajas de los PAOS respecto a los métodos tradicionales son:

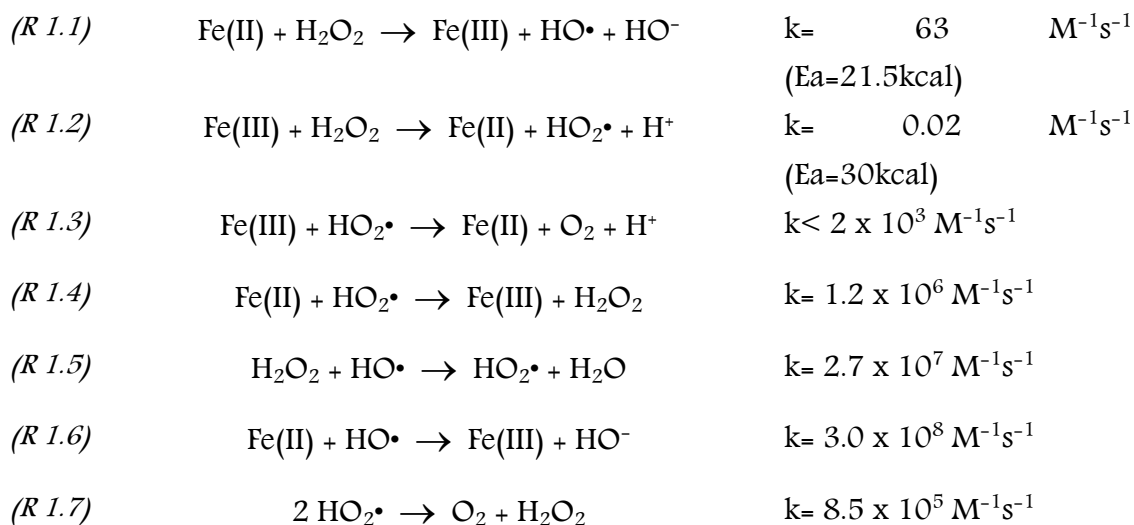
- Transforman y destruyen químicamente el contaminante hasta la mineralización.
- En general, no generan subproductos que requieran un tratamiento posterior.
- Son muy útiles para la eliminación de contaminantes refractarios, es decir para sustancias que resisten otros procesos, principalmente el biológico.
- Operan en rangos de temperatura, pH y presión donde los sistemas convencionales no son factibles.
- Son ideales como pretratamientos de procesos convencionales.
- Aumentan la biodegradabilidad.

1.6 Procesos Fenton y relacionados

Entre los diferentes PAOs disponibles, los procesos Fenton, tipo-Fenton y Foto-Fenton son considerados los más prometedores, debido a su elevada eficacia y bajo costo, para la remediación de aguas contaminadas con compuestos tóxicos y/o no biodegradables. El proceso Fenton ha resultado efectivo para degradar compuestos alifáticos y aromáticos clorados, PCBs, nitroaromáticos, colorantes, clorobenceno y

fenoles. Son muy pocos los compuestos que no pueden ser atacados por este reactivo, entre ellos el tetracloruro de carbono y el hexafluorobenceno.^[26,27]

En el año 1950 Barb y colaboradores^[28,29] propusieron un mecanismo para la descomposición de H_2O_2 en solución ácida, en oscuridad, en ausencia de materia orgánica, y catalizada por cationes bivalentes de hierro. El mecanismo básico considera la siguiente secuencia de reacciones como las más importantes.



Esta secuencia se conoce como la reacción de Fenton (llamada así por su descubridor en 1893, H.J.H. Fenton). En esta secuencia, Fe(II) y Fe(III) se emplean para representar todas las especies presentes en la solución en cada estado de oxidación respectivo.^[26,30]

Años más tarde se utilizaron sales de Fe(III),^[31] como catalizador, a estos procesos se los denominó tipo-Fenton. En particular en estos sistemas, la etapa limitante de la cinética es generalmente la reducción de Fe(III) a Fe(II) (R 1.2). Si bien, la velocidad de reducción de especies de Fe(III), en ausencia de luz, depende del ambiente redox en la mezcla de reacción, los productos de oxidación de muchos compuestos aromáticos son conocidos por ser fuertes agentes reductores que pueden participar en la producción de Fe(II).^[32] Por lo tanto, la acumulación de intermediarios reductores del Fe(III) usualmente lleva a un comportamiento autocatalítico del sistema debido al aumento de la producción de Fe(II).^[31,33] Otra característica clave de los sistemas tipo-Fenton es el hecho de que la eficiencia del catalizador es sensible a cambios en la esfera de coordinación de Fe (III), es decir, que la presencia de agentes quelantes del Fe(III) (por ejemplo, contaminantes orgánicos y oxalatos) puede afectar sustancialmente la velocidad de producción de Fe(II).^[32]

En los sistemas foto-Fenton el empleo de la radiación proporciona una vía fotoquímica para la reducción de Fe(III) y la generación de HO^\bullet . En el año 1992, B. C. Faust y J. Hoigné, propusieron el siguiente mecanismo simplificado para representar el proceso foto-Fenton ^[34]. (Figura 1.5)

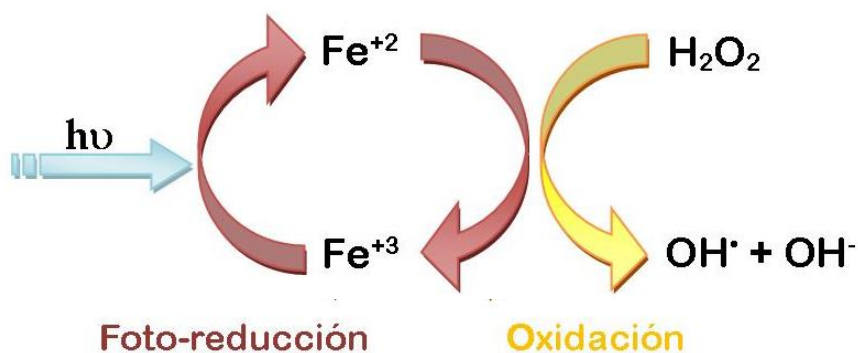


Figura 1.5: Esquema simplificado del sistema foto-Fenton.

La eficiencia de la producción de Fe(II) en los sistemas Fenton aumenta sustancialmente bajo irradiación UV. Este incremento se debe principalmente a la fotólisis de especies de Fe(III), tales como acuo-complejos y los complejos formados con ligandos orgánicos, que se disocian en el estado excitado para producir Fe(II) y el ligando oxidado ^[26]. La velocidad global de producción fotoquímica de Fe(II) depende de la naturaleza y de las propiedades espectroscópicas de las especies absorbentes, así como de la intensidad y la distribución espectral de la radiación incidente.

1.6.1 Parámetros generales que influyen en el proceso Fenton

Tanto las condiciones operativas en las que se lleva a cabo la decoloración y la mineralización, así como la composición del agua residual, afectan sustancialmente a la eficacia y velocidad del proceso de oxidación.

Los principales parámetros operativos que influyen en el proceso son:

pH: La eficiencia de los sistema Fenton, depende del pH del medio de reacción. Su efecto ha sido ampliamente estudiado, llegándose a la conclusión de que la velocidad de las reacciones tiende a ser máxima en un pH cercano a 2,8^[26,27], donde el Fe(III) existe en solución mayoritariamente como $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}_{\text{aq}}$. A valores de pH superiores, la velocidad del proceso disminuye debido a la precipitación de hierro en forma de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y a pH menores a 2 se inhibe la formación de Fe(II) debido a una disminución en la constante de velocidad aparente del proceso representado por R1.2 obstaculizando la generación de $\cdot\text{OH}$. Además a valores de pH menores a 2.5, la especie dominante entre las formas de Fe(III) es la especie $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$. El hexaacuocomplejo es un fotocatalizador mucho menos efectivo que el complejo $\text{Fe}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5^{2+}$ ya que presenta escasa absortividad molar para longitudes de onda mayores a 310 nm y un bajo rendimiento cuántico de producción de $\cdot\text{OH}$.

Relación Fe(II)/H₂O₂: La dosis de H₂O₂ influye fundamentalmente sobre la eficacia del proceso mientras que la concentración de hierro afecta a la cinética. Se ha observado que la velocidad de reacción tiende a aumentar con la concentración de reactivos. Sin embargo, altas concentraciones de Fe(II) dan lugar a una disminución de la eficacia debido a la activación de reacciones secundarias, tales como R1.6 que actúa como sumidero de $\cdot\text{OH}$ y la formación de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ que puede precipitar generando lodos indeseables en aplicaciones tecnológicas^[32]. Por otro lado un exceso de peróxido daría lugar a la reacción no deseada R1.5.^[26,35]

La relación $[\text{Fe}(\text{II})]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ más favorable de operación desde el punto de vista técnico, económico y medioambiental dependerá de las características del efluente a tratar.^[27]

Temperatura: La velocidad de mineralización y decoloración aumenta con el incremento de temperatura^[36]. Este aspecto es muy importante debido a que las industrias textiles tienen una temperatura elevada en su proceso de producción, por lo que no sería necesario aplicar un aporte energético extra para alcanzar altas velocidades de reacción.

Concentración de aniones inorgánicos: Ciertos aniones inorgánicos actúan como inhibidores de la acción de los radicales OH o forman especies no reactivas con

el hierro. Algunos estudios han mencionado la disminución de la velocidad del proceso debido a la presencia en altas concentraciones de fluoruros, sulfatos, bromuros, cloruros nitratos percloratos e hidrogeno fosfatos. Estos iones en algunos casos reducen la reactividad del Fe(III) a través de mecanismos de coordinación y en otros secuestran radicales hidroxilo.^[26,27]

Como se dijo anteriormente, la composición del efluente a tratar es un factor significativo. La formación de complejos entre los contaminantes o sus subproductos de degradación y el catalizador pueden inhibir la capacidad catalítica del mismo.^[32] Además, el hecho de que muchos vertidos presentan una fuerte absorción, es decir que los coeficientes molares de absorción de los colorantes son ampliamente mayores al del H₂O₂ (medida a 254nm), conduce a un inconveniente en los sistemas foto-Fenton, conocido como efecto de filtro interno. En dicho efecto, la presencia de los contaminantes induce un aumento de la densidad óptica interna, en consecuencia, tanto el peróxido de hidrógeno como el catalizador sólo son irradiados por una porción pequeña de la radiación UV incidente.^[37]

1.6.2 Ventajas y desventajas del proceso Fenton y relacionados

En la tabla 1.8 se enumeran las principales ventajas y desventajas de los procesos Fenton, tipo-Fenton con Fe(III) como catalizador y foto-Fenton.

Ventajas	Desventajas
<p>✓ Tanto el Fe(II) como el Fe(III) están ampliamente disponibles en la naturaleza y no son tóxicos.</p> <p>✓ El proceso se lleva a cabo a presión y temperatura ambiente.</p> <p>✓ El peróxido de hidrogeno es ambientalmente benigno y de fácil manipulación.</p> <p>✓ A diferencia de otras técnicas oxidativas que emplean como oxidantes Cl₂ y percloratos, no se producen compuestos clorados nocivos.</p> <p>✓ Al ser sistemas homogéneos no existen problemas de transferencia de masa</p> <p>✓ Su aplicación tecnológica requiere sencillos diseños de reactores</p> <p>✓ El equipamiento y mantenimiento de una planta de tratamiento Fenton es sencillo en comparación con otros PAOs.</p> <p>✓ El proceso foto-Fenton puede realizarse bajo una fuente renovable y barata de energía como es la radiación solar.</p> <p>✓ Si bien en algunos casos no se logra la completa mineralización, hay un importante incremento en la biodegradabilidad de los contaminantes orgánicos.</p>	<p>✗ Requieren control estricto de pH y una posterior neutralización.</p> <p>✗ El peróxido de hidrogeno posee un costo mayor que el de oxidantes tradicionales como O₂ y Cl₂</p> <p>✗ La utilización de lámparas UV en los procesos foto-Fenton implican un aumento en los costos.</p> <p>✗ La formación de complejos entre el contaminante y los reactivos del procesos Fenton implican un aumento significativo en los tiempos de tratamiento.</p> <p>✗ Para altas cargas de contaminantes los efectos de filtro interno pueden tornar poco eficientes a los sistemas foto-Fenton.</p> <p>✗ Compuestos como el tetracloruro de carbono o el hexa fluorobenceno son resistentes a la reacción Fenton. ^[38]</p>

Tabla 1.8: Ventajas y desventajas de los procesos Fenton y relacionados

1.7 Espectroscopía de fluorescencia Molecular

Tal como se explicó en la sección 1.2, al incidir radiaciones electromagnéticas de longitud de onda adecuada sobre las moléculas orgánicas se puede producir una transición desde el estado electrónico fundamental hasta un estado electrónico excitado. Los estados excitados son inestables; por tanto, existe en las moléculas una tendencia a retornar al estado de mínima energía. La fluorescencia es un fenómeno físico en el cual las moléculas relajan al estado basal, liberando, en un periodo de tiempo muy corto, su exceso de energía en forma de fotones. Una de las características más atractivas de los métodos de fluorescencia es su sensibilidad inherente, la cual es, con frecuencia, de uno a tres órdenes de magnitud mayor que la de la espectroscopía de absorción. No obstante, los métodos de fluorescencia se aplican mucho menos que los métodos de absorción debido al número relativamente limitado de sistemas químicos que presentan tasas de emisión medibles. ^[39,40]

Existen diversas formas en las cuales una molécula excitada libera su exceso de energía y se relaja a su estado fundamental. Dos de los más importantes de estos mecanismos son la relajación no radiante (la relajación vibracional y conversión interna) y la relajación fluorescente^[41].

La relajación vibracional, tiene lugar durante las colisiones entre moléculas excitadas y las moléculas del disolvente, durante estas colisiones el exceso de energía vibracional se transfiere a las moléculas del disolvente en una serie de etapas. La ganancia de energía vibracional del disolvente se refleja en un ligero incremento de la temperatura del medio. La relajación vibracional es un proceso tan eficiente que el tiempo de vida promedio de un estado vibracional excitado es de 10^{-15} s aproximadamente. También puede ocurrir la relajación no radiativa entre el nivel vibracional inferior de un estado electrónico excitado y el nivel vibracional superior de otro estado electrónico. Este tipo de relajación es llamado algunas veces conversión interna.^[41,42]

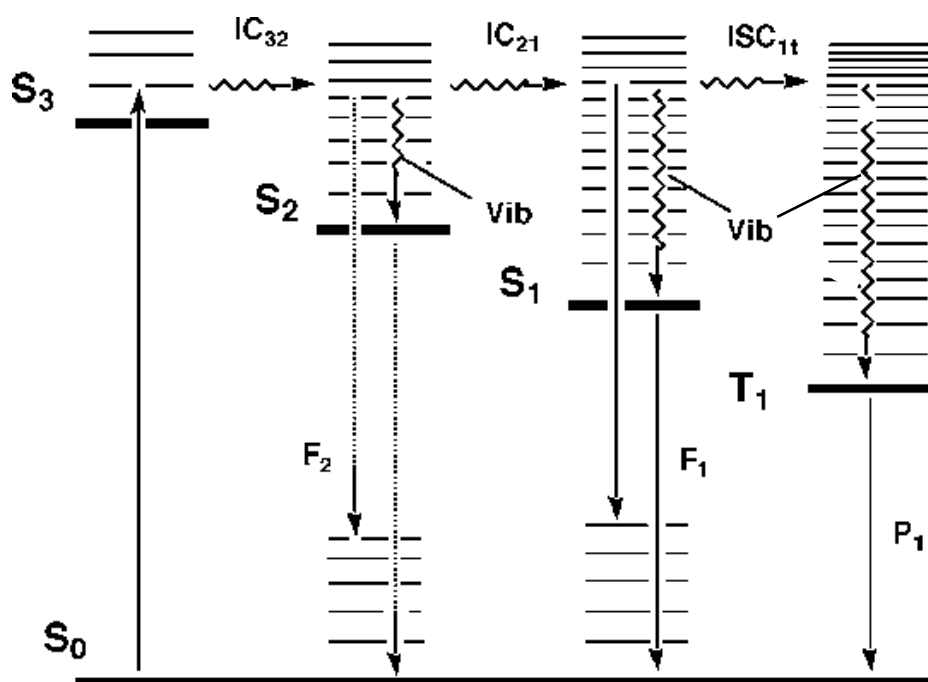


Figura 1.6: Esquema de los procesos radiativo y no radiativo de moléculas orgánicas.

En la figura 1.6 se observan las transiciones electrónicas que pueden ocurrir durante la relajación de moléculas excitadas. IC_{32} e IC_{21} indican la conversión interna de S_3 a S_2 y de S_2 a S_1 , respectivamente, F_2 , F_1 , P_1 indican los decaimientos radiativos de S_2 , S_1 y T_1 , respectivamente, y Vib es la relajación vibratoria en los estados excitados S_2 , S_1 y T_1 .

El camino más probable hacia el estado fundamental es aquel que minimiza el tiempo de vida del estado excitado. Por tanto, si la desactivación por fluorescencia es rápida con respecto a los procesos no radiativos, se observa tal emisión. Por otro lado, si un camino de desactivación no radiativa tiene una constante de velocidad favorable, la fluorescencia no tiene lugar o es menos intensa.^[42–44]

Las bandas de fluorescencia molecular están formadas principalmente por bandas que tienen longitudes de onda más largas y, por tanto, energías menores que la banda de radiación responsable de su excitación. Este desplazamiento hacia longitudes de onda mayores se denomina desplazamiento de Stokes.^[45]

En aquellos casos en los que la radiación absorbida sea emitida sin cambio en la longitud de onda (misma energía) se conoce como radiación de resonancia o resonancia fluorescente.^[45]

El espectro de excitación es, muy frecuentemente, similar al espectro de absorción. Además, debido a que las diferencias de energía entre los estados

vibracionales son aproximadamente los mismos, tanto para el estado fundamental como para el excitado, el espectro de excitación y el espectro de emisión o fluorescencia de un compuesto frecuentemente aparecen como la imagen especular uno del otro con una superposición que ocurre en la línea de resonancia.^[45]

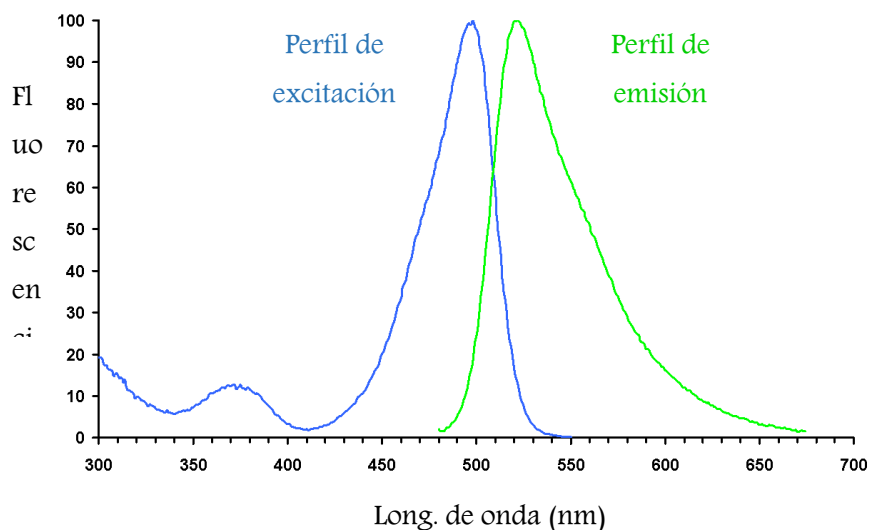


Figura 1.7: Esquema de los perfiles de excitación y de emisión de una molécula

1.7.1 Variables que afectan la fluorescencia

Estructura: El primer requisito para que exista fluorescencia es que la molécula posea una estructura capaz de absorber radiación ultravioleta o visible. Generalmente estas regiones del espectro están asociadas a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$. Sin embargo, experimentalmente se ha observado que el comportamiento fluorescente se presenta con más frecuencia en compuestos en los que la transición es $\pi \rightarrow \pi^*$ y no en aquellos en los que es $n \rightarrow \pi^*$. Esta condición descartaría a los compuestos orgánicos saturados, mientras que los compuestos conteniendo dobles enlaces conjugados, especialmente aquellos con un alto grado de estabilización por resonancia, gran rigidez y estructuras multi-cíclicas, como es el caso de compuestos orgánicos aromáticos, y compuestos alifáticos y alicíclicos de carbonilo o estructuras con muchos dobles enlaces conjugados, serían candidatos a presentar fluorescencia.^{42,46}

Cabe aclarar, que la emisión fluorescente de una molécula orgánica aromática suele estar muy influenciada por los sustituyentes en el anillo bencénico. Así, la presencia de grupos donores de electrones, como $-\text{NH}_2$ y $-\text{OH}$ favorecen la

fluorescencia, mientras que la introducción de átomos de número atómico elevado o de grupos aceptores de electrones, tales como —COOH , —NO_2 , —N=N— y halógenos, disminuyen y, en ocasiones inhiben completamente la fluorescencia.^[42,46–48]

Rigidez estructural. Empíricamente se encuentra que la fluorescencia está particularmente favorecida en moléculas que poseen estructuras rígidas. La influencia de la rigidez también tiene importancia en el aumento de la fluorescencia de ciertos quelantes orgánicos cuando forman parte de complejos con iones metálicos.^[42]

Rendimiento cuántico. El rendimiento cuántico o la eficacia cuántica de la fluorescencia es simplemente la relación entre el número de moléculas que emiten fluorescencia respecto al número total de moléculas excitadas. Las moléculas altamente fluorescentes tienen eficiencias cuánticas cercanas a la unidad mientras que las especies no fluorescentes tienen eficiencias que son prácticamente nulas.

Temperatura y disolvente. La temperatura es una variable importante en fluorimetría analítica, observándose una disminución de la fluorescencia al aumentar aquella. El cambio en la fluorescencia es normalmente del 1 % por °C, si bien, en algunos compuestos, como el triptofano o la rodamina B puede ser hasta del 5 %. La disminución de la emisión fluorescente con la temperatura se debe a que el aumento de la frecuencia de choques al elevar temperatura incrementa la probabilidad de desactivación no radiativa. Además el aumento de temperatura hace disminuir la viscosidad del disolvente, lo cual, también aumenta la probabilidad de desactivación no radiativa mediante colisiones. Por otra parte, en distintos sistemas se ha observado que el aumento de la polaridad del disolvente produce generalmente un desplazamiento en el espectro de fluorescencia hacia mayores longitudes de onda.^[47,49]

Efecto del pH. El espectro de fluorescencia de muchos compuestos aromáticos conteniendo grupos funcionales ácidos o básicos es sensible al pH. Los cambios en la emisión de los compuestos de este tipo provienen de las diferencias en los niveles de energías asociadas a cada especie ácido-base.^[42,47]

Efecto de la concentración. La intensidad de fluorescencia, F , es directamente proporcional a la concentración, c , de la sustancia absorbente, pero solo a concentraciones relativamente bajas, lo cual puede demostrarse como sigue:

Asumiendo que a la intensidad de la radiación fluorescente (F) es proporcional a la potencia radiante del haz de excitación que es absorbida por el sistema se tiene:

$$F = K'(P_0 - P) \quad \text{Ec. 1.1}$$

donde P_0 es la potencia del haz incidente sobre la disolución, P es su potencia después de atravesar la longitud b del medio y la constante K' depende de la eficiencia cuántica del proceso de fluorescencia. Con objeto de relacionar F con la concentración c , escribimos la ley de Beer de la siguiente forma:

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad \text{Ec. 1.2}$$

Y sustituyendo en la Ec. 1.1 nos queda:

$$F = K'P_0(1 - 10^{-\epsilon bc}) \quad \text{Ec. 1.3}$$

Asumiendo que se trabajó con soluciones diluidas, podemos desarrollar el término exponencial como una serie de Maclaurin para obtener:

$$F = K'P_0 \left[2.303\epsilon bc - \frac{(2.303\epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2.303\epsilon bc)^3}{3!} \right] \quad \text{Ec. 1.4}$$

siempre que $2.303\epsilon bc < 0.05$ la relación anterior puede escribirse como:

$$F = K'P_0 2.303\epsilon bc \quad \text{Ec. 1.5}$$

En estas condiciones, si P_0 se mantiene constante, se obtiene la relación lineal previamente mencionada

$$F = Kc \quad \text{Ec. 1.6}$$

Sin embargo, cuando c es suficientemente elevada como para que la absorbancia multiplicada por 2.303 sea mayor que 0.05, los términos de mayor orden de la expresión anterior no son despreciables y la linealidad se pierde. Además, para altas concentraciones, también se producen pérdidas de linealidad como consecuencia del fenómeno conocido como autoapagamiento, en el cual las moléculas del analito absorben la fluorescencia producida por otras moléculas de analito.^[50]

1.7.2 Instrumentación

Como la mayor parte de los instrumentos utilizados en los métodos espectroscópicos, los componentes principales de un fluorímetro son: una fuente de radiación, sistemas para la selección de longitudes de onda de análisis (filtro o monocromador), una cubeta conteniendo la muestra, y un detector. Sin embargo, una diferencia importante entre la fluorimetría y los demás métodos espectroscópicos es la presencia de dos filtros (o dos monocromadores); un monocromador selecciona la longitud de onda de excitación, y la fluorescencia se examina con un segundo monocromador que selecciona la longitud de onda de emisión, el cual generalmente se coloca de manera que forme un ángulo de 90° con la luz incidente. (Figura 1.8)

Manteniendo fija la λ_{ex} y haciendo un barrido de la radiación emitida, se obtiene un espectro de emisión. Si la λ_{em} se mantiene constante y se hace variar la λ_{ex} , se obtiene el espectro de excitación. En el presente trabajo de tesis, para caracterizar la evolución temporal de las mezclas de reacción se emplearán las denominadas matrices de excitación-emisión. Estas matrices se construyen para cada muestra a partir del barrido tanto de λ_{ex} como de λ_{em} . En consecuencia, las matrices de excitación-emisión (EEM), utilizan las longitudes de onda de emisión, de excitación y las intensidades de fluorescencia como ejes x, y z, respectivamente y son una forma tridimensional sencilla de mostrar una serie de espectros de emisión colectados a diferentes longitudes de excitación.

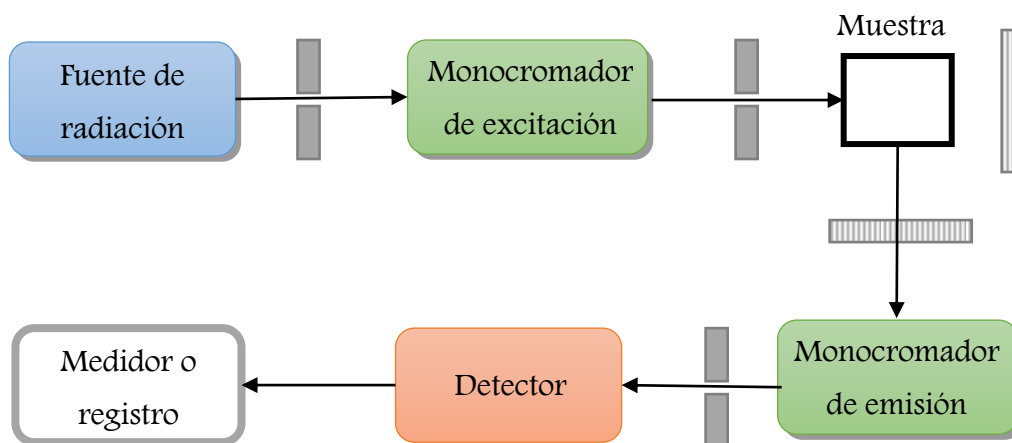


Figura 1.8: Componentes básicos de un fluorímetro.

1.8 Aplicación de técnicas quimiométricas para el estudio cinético de la decoloración de colorantes en sistemas tipo-Fenton.

En la mayoría de los trabajos relacionados con la degradación de colorantes, mediante el empleo de PAOs, se ha empleado la evolución temporal de absorbancia (usualmente a la longitud de onda correspondiente a algún máximo de absorción del contaminante) para caracterizar los perfiles de decoloración.^[51–53] Este método de análisis es sencillo, de muy bajo costo y permite una rápida apreciación de la cinética del proceso. Sin embargo, prácticamente no aporta ninguna información desde el punto de vista mecanístico.

Por otra parte, una fracción considerablemente menor de las publicaciones relacionadas con los PAOs presenta estudios detallados acerca de las posibles rutas de degradación de los contaminantes. Este tipo de estudio requiere del análisis de intermediarios formados en el transcurso de la reacción por métodos cromatográficos tales como SPE-GC-MS, LC-MS y LCMS-MS^[54–56]. Estas técnicas permiten obtener valiosa información acerca de los mecanismos de degradación, pero son mucho más costosas y difíciles de implementar que los métodos espectroscópicos.

Una alternativa particularmente atractiva para el estudio cinético y mecanístico de estos sistemas es la aplicación de técnicas quimiométricas para el análisis de datos espectroscópicos multivariados. La quimiometría ha sido definida como la parte de la química que se sirve de las matemáticas, de la estadística y de la lógica formal para:

- ✂ Diseñar o seleccionar procedimientos experimentales óptimos.
- ✂ Proporcionar información química relevante a partir del análisis de señales analíticas.
- ✂ Desarrollar modelos de diferente complejidad que permitan describir los sistemas químicos estudiados.^[57]

Los campos en donde la quimiometría se viene utilizando o se empieza a utilizar van en aumento debido a la gran cantidad de técnicas analíticas actualmente disponibles que generan datos multivariados. Sin embargo, son relativamente escasos los trabajos en donde se han aplicado algunas de estas técnicas al estudio de degradación de colorantes mediante PAOs. Cabe destacar que, si bien muchas de las herramientas de resolución multivariada que se presentaran en esta tesis, han sido exitosamente aplicadas para el estudio de sistemas que involucran equilibrios o cinéticas simples, su aplicación a los PAOs no han sido hasta el momento satisfactoria. Esta limitación de los métodos multivariados para estos sistemas está directamente relacionada no solo con el gran número de especies químicas presentes sino también con la variedad de procesos paralelos que ocurren durante el tratamiento. Además, hasta donde sabemos, no se han aplicado al análisis de sus mezclas, debido a la complejidad que presentan dichos sistemas.

1.9 Objetivos

El presente trabajo de tesis está enfocado al estudio de la viabilidad de los procesos tipo-Fenton y foto-Fenton en la degradación de colorantes representativos y de sus mezclas. Si bien la información disponible en la literatura especializada muestra que los procesos de oxidación avanzados son apropiados para el tratamiento de contaminantes orgánicos en solución, los estudios realizados utilizando mezclas de los mismos son escasos y con un enfoque distinto al que se le dará en este trabajo de tesis. En este marco, los objetivos generales son: i) La utilización de herramientas matemáticas y estadísticas que permitan predecir el comportamiento global del sistema según la composición de la mezcla. ii) La aplicación de métodos multivariados como herramientas sencillas y de bajo costo para monitorear la evolución temporal de estos sistemas. iii) Establecer pautas generales que permitan seleccionar las mejores condiciones de tratamiento.

Introducción

Los objetivos específicos que se han perseguido en el desarrollo de la tesis son:

- ❖ El estudio de la influencia de las condiciones de reacción tales como concentraciones de substrato contaminante, de oxidante y de catalizador sobre la cinética de decoloración y de mineralización, tanto de los colorantes individuales como de sus mezclas binarias y ternaria.
- ❖ La utilización de la metodología de diseño de experimentos para la selección de las condiciones óptimas de tratamiento de las mezclas a estudiar.
- ❖ El análisis del comportamiento de los tiempos de decoloración y de mineralización de las mezclas mediante el empleo de superficies de respuesta.
- ❖ La aplicación de métodos de análisis multivariado (MCR y PARAFAC) para estudiar tanto la evolución temporal de los espectros de absorción UV-vis como las matrices de emisión-excitación correspondientes a muestras con diferentes grados de conversión.

1.10 Bibliografía

1. GIWA. *Challenges to International Waters: Regional Assessments in a Global Perspective*. (2006).
2. Calcagno, A., Mendiburo, N. & Gaviño Novillo, M. Informe sobre la gestión del agua en la República Argentina. *World Water Vis.* 151 (2000).
3. Federation, W. E. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 2120 B. (1999).
4. Moeller, G. & Garzón, M. Desarrollo de tecnologías no convencionales para el tratamiento de efluentes de la fabricación de colorantes del tipo azo. *Anu. IMTA* 77–85 (2003).
5. Marcano, D. *Introducción a la química de los colorantes*. (1990).
6. Mittal, A., Thakur, V. & Gajbe, V. Adsorptive removal of toxic azo dye Amido Black 10B by hen feather. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**, 260–269 (2013).
7. Costante, M., Caram, B. F., Somma, S. & García Einschlag, F. S. Tratamiento de Amido Black 10B con Fe(III)/H₂O₂ y Cu(II)/H₂O₂. II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental II Congreso Nacional de la Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental. (2015).
8. Gaunt, I. ., Kiss, I. S., Grasso, P. & Gangolli, S. . Short-term toxicity of orange G in pigs. *Food Cosmet. Toxicol.* **11**, 367–374 (1973).
9. I.F. GAUNT, M. WRIGHT, P. GRASSO, S. D. G. Short-term Toxicity of Orange G in Rats. *Food Cosmet. Toxicol.* **9**, 329–342 (1971).
10. Briscoe, M. S. *Handbook of Biological Data. Journal of the National Medical Association* **49**, (1957).
11. Howard, P. H. *Handbook of environmental degradation rates*. (CRC Press, 1991).
12. O. Salaverry. *Pimentos Naturales Quinónicos*. (Fondo Editorial UNMSM, 1998).
13. Paul, H., Reginato, a J. & Schumacher, H. R. Alizarin red S staining as a screening test to detect calcium compounds in synovial fluid. *Arthritis Rheum.* **26**, 191–200 (1983).
14. Green O.R. *A Manual of Practical Laboratory and Field Techniques in Palaeobiology* ©. (2001).
15. Caram, B. F., Costante, M., Somma, S. & García Einschlag, F. S. Complejación de Fe(III) o Cu(II) con Alizarina en procesos Fenton. II Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. (2015).
16. Hisaindee, S., Meetani, M. A. & Rauf, M. A. Application of LC–MS to the analysis of advanced oxidation process (AOP) degradation of dye products and reaction mechanisms. *TrAC Trends Anal. Chem.* **49**, 31–44 (2013).

17. Glaze, W. H., Kang, J.-W. & Chapin, D. H. The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation. *Ozone Sci. Eng.* **9**, 335–352 (1987).
18. Glaze, W. H. Drinking-water treatment with ozone. *Environ. Sci. Technol.* **21**, 224–230 (1987).
19. Cheng, M. *et al.* Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compounds: A review. *Chem. Eng. J.* **284**, 582–598 (2016).
20. Andreozzi, R. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. *Catal. Today* **53**, 51–59 (1999).
21. Haag, W. R. & Yao, C. C. D. Rate Constants for Reaction of Hydroxyl Radicals With Several Drinking-Water Contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1005–1013 (1992).
22. Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P., Ross, A. B. & Tsang, W. Critical Review of rate constants for reactions of hydrated electrons Chemical Kinetic Data Base for Combustion Chemistry. Part 3: Propane. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **17**, 513 (1988).
23. Cassano, D. *et al.* Comparison of several combined/integrated biological-AOPs setups for the treatment of municipal landfill leachate: Minimization of operating costs and effluent toxicity. *Chem. Eng. J.* **172**, 250–257 (2011).
24. Kiwi, J., Pulgarin, C. & Peringer, P. Effect of Fenton and photo-Fenton reactions on the degradation and biodegradability of 2 and 4-nitrophenols in water treatment. *Appl. Catal. B Environ.* **3**, 335–350 (1994).
25. Muñoz, I. *et al.* Life cycle assessment of a coupled solar photocatalytic-biological process for wastewater treatment. *Water Res.* **40**, 3533–40 (2006).
26. Pignatello, J. J., Oliveros, E. & MacKay, A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **36**, 1–84 (2006).
27. Neyens, E. & Baeyens, J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique. *J. Hazard. Mater.* **98**, 33–50 (2003).
28. Barb WG., George, P. & Hargrave, K. R. H. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 591–616 (1950).
29. Barb, W., Baxendale, J., George, P. & Hargrave, K. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 462–500 (1951).
30. Koppenol, W. H. The centennial of the Fenton reaction. *Free Radic. Biol. Med.* **15**, 645–651 (1993).
31. Nichela, D., Carlos, L. & Einschlag, F. G. Autocatalytic oxidation of nitrobenzene using hydrogen peroxide and Fe(III). *Appl. Catal. B Environ.* **82**, 11–18 (2008).

32. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fenton techniques I. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fen. *Appl. Catal. B Environ.* **170–171**, 312–321 (2015).
33. Nichela, D. *et al.* Degradation kinetics of hydroxy and hydroxynitro derivatives of benzoic acid by fenton-like and photo-fenton techniques: A comparative study. *Appl. Catal. B Environ.* **98**, 171–179 (2010).
34. Zepp, R. G., Faust, B. C. & Hoigne, J. Hydroxyl radical formation in aqueous reactions (pH 3–8) of iron(II) with hydrogen peroxide: the photo-Fenton reaction. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 313–319 (1992).
35. Pérez, M. Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Res.* **36**, 2703–2710 (2002).
36. Torrades, F., Garc??a-Hortal, J. A. & N????ez, L. Fenton and photo-Fenton oxidation of a model mixture of dyes - Overall kinetic analysis. *Color. Technol.* **124**, 370–374 (2008).
37. Aleboyeh, A., Moussa, Y. & Aleboyeh, H. The effect of operational parameters on UV/H₂O₂ decolourisation of Acid Blue 74. *Dye. Pigment.* **66**, 129–134 (2005).
38. Bigda, R. J. Consider Fenton`s chemistry for wastewater treatment. *Chem. Eng. Prog.* **91**, 62–66 (1995).
39. Baker, A. & Genty, D. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *J. Hydrol.* **217**, 19–34 (1999).
40. Stedmon, C. A., Markager, S. & Bro, R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* **82**, 239–254 (2003).
41. Turro, A. N. J., Ramamurthy, V. & Scaiano, J. C. Book Review Modern Molecular Photochemistry of Organic Molecules. 2012 (2012). doi:10.1111/j.1751-1097.2012.01178.x
42. Itoh, T. Fluorescence and Phosphorescence from Higher Excited States of Organic Molecules. (2012).
43. Spitaler, M. Principles of fluorescence. (2011).
44. James, N. G. Lecture 1 : Basic Concepts on Absorption and Fluorescence.
45. Hofkens, J. & Enderlein, J. Basic Principles of Fluorescence Spectroscopy. 1–30 (2011).
46. Ryder, A. G., Glynn, T. J. & Feely, M. Influence of chemical composition on the fluorescence lifetimes of crude petroleum oils .
47. Talmadge, E. & Hospital, M. An investigation into the relation between structure and fluorescence of azo dyes. *R. Microsc. Soc.* **87**, 309–328 (1967).

48. Rothman, W. *et al.* Fluorescence of saturated hydrocarbons . III . Effect of molecular structure Fluorescence Lifetimes of Saturated Hydrocarbons Fluorescence of saturated hydrocarbons . III . Effect of molecular structure *. **1300**, (1973).
49. Sumitani, M., Nakashima, N. & Yoshihaju, K. TEMPERATURE DEPENDENCE OF FLUORESCENCE LIFETIMES OF TRANSSTILBENE. **5**, 183–185 (1977).
50. Wu, F. C. Relationships between DOC concentration , molecular size and fluorescence properties of DOM in a stream. **22**, 1659–1667 (2007).
51. Lucas, M. S. & Peres, J. A. Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dye. Pigment.* **71**, 236–244 (2006).
52. Sun, J.-H., Sun, S.-P., Wang, G.-L. & Qiao, L.-P. Degradation of azo dye Amido black 10B in aqueous solution by Fenton oxidation process. *Dye. Pigment.* **74**, 647–652 (2007).
53. Sun, S. P. *et al.* Decolorization of an azo dye Orange G in aqueous solution by Fenton oxidation process: Effect of system parameters and kinetic study. *J. Hazard. Mater.* **161**, 1052–1057 (2009).
54. Meetani, M. a. *et al.* Mechanistic studies of photoinduced degradation of Orange G using LC/MS. *RSC Adv.* **1**, 490 (2011).
55. Lai, B., Zhou, Y., Wang, J., Yang, Z. & Chen, Z. Application of excitation and emission matrix fluorescence (EEM) and UV – vis absorption to monitor the characteristics of Alizarin Red S (ARS) during electro-Fenton degradation process. *Chemosphere* **93**, 2805–2813 (2013).
56. Hisaindee, S., Meetani, M. A. & Rauf, M. A. Application of LC-MS to the analysis of advanced oxidation process (AOP) degradation of dye products and reaction mechanisms. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **49**, 31–44 (2013).
57. Massart, L. & Vandeginste, B. Handbook of Qualimetrics Part A. 519–556 (1995).



CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Parte I: Reactivos y técnicas analíticas

2.1.1 Reactivos

Durante el desarrollo de este trabajo de tesis se realizaron experimentos usando como reactivos Alizarina Roja S (para microscopía, Biopack), Negro Acido 1 (para microscopía, Anedra), Naranja G (para microscopía, Anedra), $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (cloruros < 0.005%, Aldrich), H_2SO_4 (98%, Merck), $\text{Na}(\text{OH})$ (Merck), H_2O_2 (30%, Merck), Metanol (H_2O < 0.5%, Cicarelli). En todos los casos los compuestos fueron usados sin previa purificación y las soluciones fueron preparadas en el día, utilizándose agua de calidad milli-Q.

Los compuestos empleados para la preparación de las distintas fases móviles utilizadas en las corridas cromatográficas fueron acetonitrilo (Merk, calidad HPLC), metanol (Merk, calidad HPLC), ácido fosfórico (Cicarelli, 85%) y acetato de amonio (Sigma-Aldrich, 98%).

2.1.2 Determinaciones Analíticas

2.1.2.1 Espectrofotometría UV-Vis

Esta técnica analítica está basada en la medida directa de la absorción de radiación electromagnética por parte de una muestra. La absorción de la radiación varía con la longitud de onda de la radiación incidente dependiendo de la composición química de la muestra. En general, en ausencia de fenómenos tales como asociaciones, disociaciones o equilibrios tanto ácido-base como de complejación, las contribuciones a la absorbancia total de una solución que contiene varios analitos son aditivas y proporcionales a sus concentraciones. Un espectro de absorción UV-visible no proporciona una clara identificación de un compuesto, pero es muy útil para observar cambios en algunos grupos funcionales, debido a que es muy sensible a ellos.

En este trabajo de tesis, los espectros de absorción UV-visible se obtuvieron con los siguientes espectrofotómetros: UV-1800 Shimadzu y UV-Vis Agilent Cary 60. Ambos poseen programas adecuados para registrar y almacenar los espectros. (Tabla 2.1)



	UV-1800	Cary 60
		
Intervalo espectral	190 nm – 1100 nm	190 nm – 1100 nm
Anchura de la rendija	1 nm	1,5 nm
Tipo de lámpara	deuterio (D2) y halógeno (WI)	Flash de Xenon
Sistema fotométrico	Doble haz	Barrido
Intervalo fotométrico	-4 a 4 Abs	-4 a 4 Abs
Exactitud espectral	$\leq \pm 0,3$ nm	$< \pm 0,5$ nm
Reproducibilidad espectral	$\pm 0,1$ nm	$\pm 0,1$ nm
Exactitud fotométrica	$\pm 0,006$ Abs	$\pm 0,005$ Abs (NIST 930D)
Ruido fotométrico	$\pm 0,0005$ Abs	$\pm 0,0001$ Abs
Estabilidad de la línea base Luz difusa	$\pm 0,0006$ Abs	$< 1,0\%$ (198 nm) $< 0,05\%$ (220 nm) $< 0,05\%$ (370 nm)

Tabla 2.1: Características publicadas por los proveedores de los espectrofotómetros utilizados.

Los espectros se realizaron utilizando H₂O de calidad milli-Q como blanco. Para las medidas, se emplearon celdas de cuarzo de 2 o 10 mm de camino óptico, que se eligieron según la absorbancia de la muestra. Las soluciones cuya absorbancia en el rango comprendido entre 275 y 800 nm mostraron valores mayores que 2.5 fueron previamente diluidas para evitar pérdida de linealidad en las determinaciones.

Durante los experimentos cinéticos se registraron los espectros de absorción a distintos tiempos. Cambios en los espectros de absorción durante un proceso indican inequívocamente una transformación química. Los datos obtenidos por esta técnica se utilizaron para realizar gráficos, hallar condiciones de optimización y, por medio de herramientas quimiométricas, evaluar aspectos cinéticos del proceso.

2.1.2.2 Cromatografía líquida con detección espectrofotométrica

La cromatografía líquida es una técnica que se utiliza para separar componentes de una mezcla basándose en distintos tipos de interacciones químicas o físicas generadas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica. En esta técnica, los compuestos a analizar atraviesan la columna cromatográfica (fase estacionaria) mediante el bombeo del solvente (fase móvil). Como la fase estacionaria está compuesta por partículas pequeñas densamente empaquetadas, ofrece gran resistencia al flujo de la fase móvil, y en consecuencia, se requiere una alta presión para que el solvente fluya a una velocidad adecuada. El tiempo que tarda un compuesto en ser eluido de la columna se llama tiempo de retención (t_r), el cual depende de la naturaleza misma del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. Se denomina cromatograma a la gráfica de la señal registrada en el sistema de detección, en función del tiempo de corrida. En el caso de utilizar detector UV-Vis, la señal es proporcional a la absorbancia de la solución a la longitud de onda seleccionada. También se pueden utilizar otras propiedades para la detección, tales como la fluorescencia, el índice de refracción, o la conductividad, entre otras.

En este trabajo se utilizó esta técnica con el objetivo fundamental de obtener los perfiles de concentración de consumo de reactivo y formación de productos que tienen lugar a lo largo de una reacción.

Para estas medidas se empleó un equipo Shimadzu Prominence LC-20A (figura 2.1). Este equipo cuenta con un módulo de distribución de solventes (LC-20AT), un degasificador en línea (DGU-20A5), un módulo controlador (CBM-20), un inyector programable (SIL-20A HT), un horno (CTO-10AS-VP) y dos sistemas de detección. Uno de ellos es un detector espectrofotométrico UV/VIS (SPD-M20A, Shimadzu), el cual permite hacer un monitoreo simultáneo a longitudes de onda entre 200 y 800 nm. El segundo, es un detector de emisión de fluorescencia (RF-M20A) que permite fijar la λ_{exc} entre 300 y 600 nm, la señal de emisión se puede registrar a dos longitudes de onda simultáneamente en un rango de λ_{em} comprendido entre 300 y 800 nm. El equipo posee un programa de adquisición de datos (LC Solution) que permite registrar y analizar las señales provenientes de ambos detectores y extraer los espectros de absorción de cada uno de los productos obtenidos con el detector PDA.

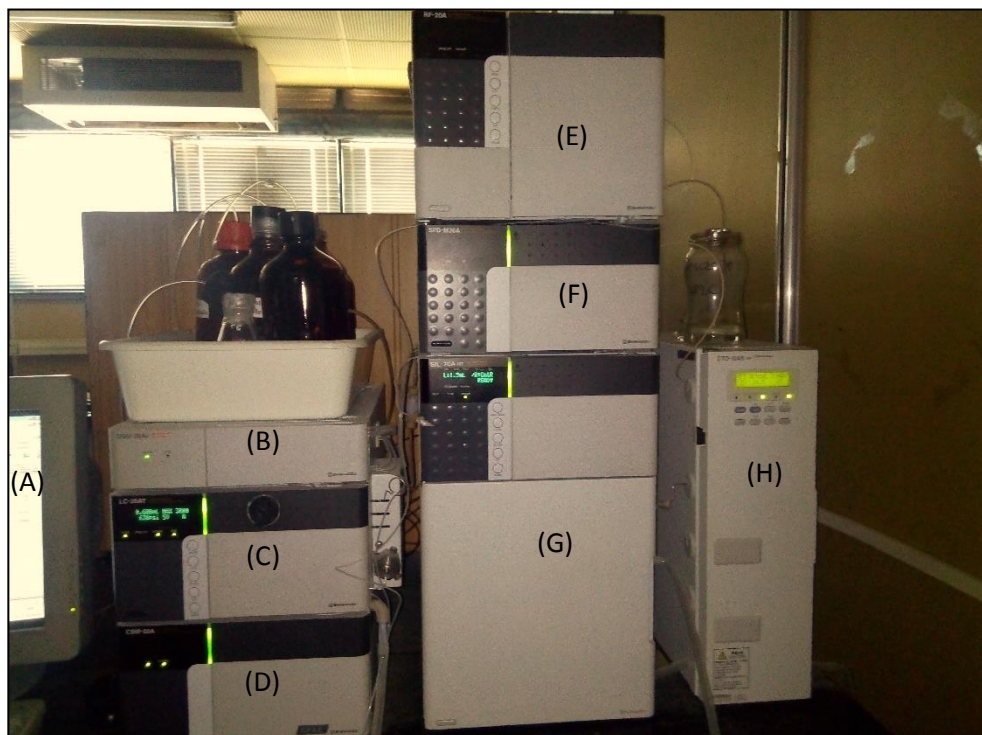


Figura 2.1: HPLC Shimadzu Prominence LC-20A: (A) PC (B) desgasificador; (C) módulo de distribución de solventes; (D) módulo controlador; (E) detector de fluorescencia (FL); (F) detector UV/vis(PDA); (G) inyector programable; (H) horno y columna.

En el presente trabajo de tesis se utilizaron las siguientes columnas, i) LiChrospher RP-C18 5 μ m (4 mm i.d \times 125 mm long, Merck) y ii) Prevail Organic Acid 5 μ m (4.6 mm i.d \times 150 mm long, Alltech). La temperatura de las columnas se mantuvo en 25 $^{\circ}$ C \pm 1 $^{\circ}$ C. Como fases móviles, se usaron distintas soluciones según los compuestos a analizar y la columna seleccionada. Las fases móviles se prepararon a partir del agregado en distintas proporciones de:

- A: solución 10mM Acetato de amonio, pH=5.3
- B: solución 10mM Acido fosfórico, pH=3
- C: Acetonitrilo
- D: Metanol

En la tabla 2.2 se expresa la composición de dichas mezclas como relación de volúmenes.

	Columna Merck	Columna Altech
Fase móvil I	77% A y 23% C	75% A y 25% C
Fase móvil II	91% A y 9% C	90% A y 10% C
Fase móvil III	70% B y 30% C	67% B y 33% C
Fase móvil IV	0-4min: 90% A y 10% C 4-12min: gradiente hasta 30% A y 70% C 12-15min: 30% A y 70% C	0-5min: 75% A y 25% C 5-8min: gradiente hasta 20% A y 80% C 8-13min: 20% A y 80% C

Tabla 2.2: Fases móviles para la separación de los reactivos según la columna utilizada.

2.1.2.3 Determinación de H_2O_2

Las soluciones comerciales de H_2O_2 se mantuvieron refrigeradas en heladera a 4°C y en oscuridad. La concentración de las soluciones stock de H_2O_2 se controló por titulación con $KMnO_4$ de acuerdo con la técnica estándar para estas determinaciones analíticas^[1]. Asimismo se realizaron controles periódicos mediante espectrofotometría UV.

La concentración de H_2O_2 en las muestras de reacción se determinó mediante un método enzimático-colorimétrico empleando un kit comercial de Wiener para determinación de colesterol^[2]. El kit comercial provee una solución que contiene 4-aminofenazona (4-AF), fenol, y una mezcla de enzimas: peroxidasa (POD), una lipasa fungal, colesterol esterasa (CHE) y colesterol oxidasa (CHOD). El método se basa en la reacción del H_2O_2 con una mezcla de 4-AF y fenol para dar como producto la quinonimina roja (4-(p-benzoquinona monoimino)-fenazona) que presenta un máximo de absorbancia a 505 nm (figura 2.2).

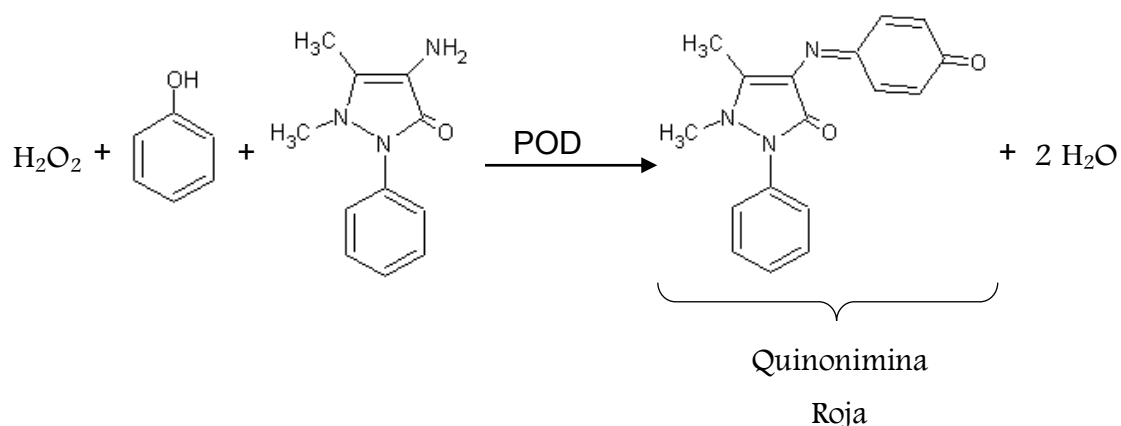


Figura 2.2: reacción entre el peróxido de hidrógeno y el kit comercial Colestat.

Las determinaciones de H_2O_2 en la mezcla de reacción se realizaron agregando 50 μL de la mezcla de reacción a 2 ml de reactivo del kit comercial. Luego de 15 minutos de incubación a temperatura ambiente y en oscuridad se tomaron los espectros de absorción entre 400 y 600 nm. La curva de calibración del método se construyó empleando soluciones comerciales de H_2O_2 previamente tituladas con KMnO_4 . A partir de la misma se determinó un valor de $5035 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ para el coeficiente de extinción molar a 505 nm correspondiente a la quinona formada.

Es importante aclarar que las enzimas Lipasa y CHOD intervienen solamente en la secuencia de reacciones que involucra la determinación del colesterol, no afectando la determinación de H_2O_2 .

2.1.2.4 Determinación de Carbono Orgánico Total (TOC)

La evolución del carbono orgánico total (TOC) fue determinada para estimar el grado de mineralización de los contaminantes durante los tratamientos con los procesos Fenton. Las medidas fueron realizadas empleando un equipo Shimadzu 5000 TOC analyzer. Este dispositivo mide el carbono total (TC) y el carbono inorgánico total (TIC) de la muestra y por diferencia de ambos parámetros ($\text{TC} - \text{TIC}$) se obtiene el carbono orgánico total (TOC). Las medidas de TC están basadas en la combustión de la muestra sobre un catalizador de platino soportado sobre esferas de óxido de aluminio. Todo el carbono presente en la muestra es transformado en CO_2 . La temperatura de la cámara de combustión es 680°C . La mezcla gaseosa resultante es conducida por un gas transportador (aire analítico libre de CO_2 , con un flujo de 150 mL min^{-1}) hacia un detector de infrarrojo.

En las medidas de TIC, la muestra es inyectada en una cámara que contiene ácido fosfórico al 25% p/v, de este modo el carbonato y el bicarbonato son liberados como CO_2 . El gas es desalojado de la cámara por el mismo gas transportador empleado en la medida de TC y llevado hacia el mismo detector de infrarrojo para analizar la concentración de CO_2 . Este detector infrarrojo genera una señal, cuya forma graficada en función del tiempo es un pico similar a una distribución normal (Gaussiana). El área del pico, que está relacionada linealmente con la concentración de carbono en la muestra (para TC o TIC) y es evaluada por el software del equipo. Para la cuantificación de TC y TIC se realizaron curvas de calibración con soluciones estándares de biftalato de potasio y bicarbonato de potasio, respectivamente. En la figura 2.3 se presenta una imagen del equipo utilizado.



Figura 2.3. Fotografía del equipo TOC Shimadzu 5000 TOC analyzer.

2.1.2.5 Determinación del pH

El pH de las soluciones se midió empleando un pH-metro Radiometer modelo PHM220. Se utilizó un electrodo de vidrio combinado con una referencia interna de Ag/AgCl y un puente salino de KCl saturado. La calibración fue realizada empleando

buffers comerciales de pH 4.01, 7.00 y 10.0 marca Cicarelli. En la figura 2.4 se muestra una imagen del equipo utilizado para las medidas de pH.



Figura 2.4: Fotografía del pHmetro utilizado.

2.1.2.6 Espectrofluorimetría

Esta técnica analítica se basa en la medida directa de la fluorescencia, inducida por la radiación electromagnética, por parte de una muestra tal como se explicó en el capítulo 1. La fluorescencia es un proceso de fotoluminiscencia en donde los átomos o las moléculas de la muestra a analizar son excitados por absorción de la radiación electromagnética y luego se relajan hacia el estado fundamental liberando el exceso de energía en forma de fotones. En otras palabras, la fluorescencia es la emisión que resulta de la transición desde un estado singlete excitado al estado fundamental.

Los datos espectrofluorimétricos fueron obtenidos de un espectrómetro Horiba Jobin Yvon, FluoroMax-4, equipado con una lámpara de xenón continua (150W) y un tubo fotomultiplicador (PMT) como detector. Para la adquisición espectral, se utilizó el software FluorEssence™. (Figura 2.5)

Los espectros bidimensionales, comúnmente denominados matrices de excitación-emisión (EEM), se obtuvieron barriendo tanto las longitudes de onda de excitación como las de emisión. Los espectros fueron recogidos en el intervalo de 300 a 700 nm cada 5 nm en el modo excitación y de 250 a 750 nm cada 2 nm para las longitudes de onda de emisión. Se estableció el tiempo de integración igual a 0.1s y el

ancho de banda se fijó a 4 nm tanto para la excitación como para la emisión. Las muestras fueron diluidas de forma que su absorbancia máxima no fuera superior a 1. Las medidas se realizaron con una celda de cuarzo de 1 cm de camino óptico. Los datos correspondientes a cada muestra se almacenaron en matrices de excitación-emisión.



Figura 2.5: Fotografía del espectrofluorómetro Horiba Jobin Yvon FluoroMax-4.

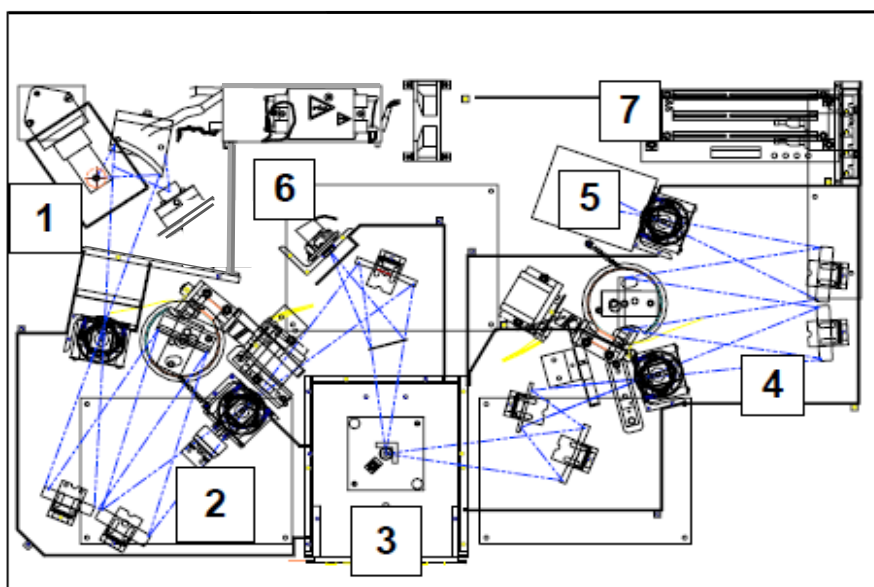


Figura 2.6: Esquema con la descripción de las partes que componen al espectrofluorómetro Horiba Jobin Yvon FluoroMax-4. 1- Lámpara de Xenon, 2- monocromador de excitación, 3- compartimiento para la muestra, 4- monocromador de emisión, 5- detector PMT, 6- detector de referencia, 7- Controlador de instrumentos.

2.2 Parte II: Técnicas numéricas

2.2.1 Diseño Estadístico de Experimentos y Metodología de Superficie de Respuesta

Todo proceso puede representarse mediante el siguiente modelo esquemático



Figura 2.7. Modelo esquemático de un proceso.

Un diseño experimental o diseño estadístico de experimentos (DEE) es una serie de pruebas en las cuales se inducen cambios deliberados en los factores de un proceso o sistema, de manera que sea posible observar o identificar las causas de los cambios en las respuestas.^[3]

El diseño experimental se utiliza para desarrollar modelos empíricos. La teoría a menudo permite predecir la existencia de una relación entre un cierto factor y una respuesta, y decidir qué tipo de función (lineal, cuadrática, etc.) es la más apropiada desde un punto de vista estadístico para describir el comportamiento del sistema, pero es raramente capaz de dar los coeficientes de esa función.

El diseño de experimentos ha sido desarrollado por matemáticos y estadísticos por lo que posee su propio lenguaje. El conocimiento de dicho lenguaje es necesario para poder utilizarlo y comprenderlo a fin de obtener conclusiones adecuadas. Entre los términos más importantes se pueden citar^[4]:

Factor: es la variable controlable que es estudiada en el experimento. Esta puede ser cualitativa (cambios en el equipo, métodos, material utilizado) o cuantitativa (temperatura, presión, concentración, tiempo).

Niveles: Si el factor es cualitativo los niveles serán por ejemplo V(verdadero) o F (falso), en cambio si el factor es cuantitativo los niveles corresponderán a los valores numéricos que tomará el factor durante el diseño.

Combinación: es la asignación de un solo nivel a cada factor de una corrida experimental.

Corrida experimental: implementación de cada una de las combinaciones.

Variable de respuesta: es la variable de interés sobre la que se analizará la significancia de los factores.

Efecto: es el cambio de la variable de respuesta por el cambio del nivel de un factor.

Interacción: es el efecto producido cuando dos o más factores actúan juntos (y es diferente al efecto que generan individualmente). Es decir, que es el efecto que no puede explicarse como la suma de las contribuciones de los factores individuales.

Bloque: agrupación planeada de factores o combinaciones, con el fin de minimizar la variación no incluida en el diseño (por ejemplo el turno o día de la semana)

Replicación: repetición de la corrida experimental.

Los principios básicos que se deben tener en cuenta al momento de ejecutar un diseño de experimento son:

- Aleatorización: la asignación al azar de los experimentos evita los efectos de los factores incontrolables.
- Reproducción: la repetición de ensayos permite estimar el error experimental y el efecto medio de cualquier factor.
- Control local: la distribución en bloques minimiza los errores por cambios de equipos o de reactivos.

Los objetivos principales de los DEE son:

- ❖ Determinar cuáles factores tienen mayor influencia en la respuesta de un determinado sistema.
- ❖ Determinar el mejor nivel de los factores controlables que influyen en la respuesta, de manera que, esta tome un valor cercano al nivel nominal deseado
- ❖ Determinar la mejor combinación de factores controlables que ayuden a reducir la variabilidad de la respuesta
- ❖ Establecer la combinación óptima de los factores controlables, con el objetivo de minimizar los efectos de los factores incontrolables.

Para cumplir con estos objetivos es necesario considerar las siguientes etapas^[3]:

1. *Comprender el problema y definir claramente el objetivo:* Cuanto más claramente se plantea el problema y se identifica el propósito o información que se desea conseguir con los experimentos, mayor puede ser la ayuda del DEE. Para lograr una comprensión profunda del sistema y del problema, es necesario recopilar toda la

información disponible sobre el sistema en estudio que pueda ser relevante para la experimentación que se realizará.

2. *Identificar los factores que potencialmente podrían influir en la variable de respuesta, y los niveles que éstos pueden tomar:* Es de vital importancia identificar y listar todos los factores que pueden tener influencia en el proceso y en la respuesta, aunque se piense que tienen poca relevancia. Se deberá considerar si cada factor especificado se mantendrá constante o se variará controladamente. En el caso de factores incontrolables habrá que analizar si se pueden cuantificar o si son imposibles de medir.

3. *Planificar la experimentación. Elección del diseño experimental:* Los aspectos más influyentes en la selección de un diseño experimental, en el sentido de que cuando cambian, por lo general, fuerzan un cambio de diseño, son:

- ⊙ El objetivo del experimento.
- ⊙ El número de factores a estudiar.
- ⊙ El número de niveles considerados para cada factor.
- ⊙ Los efectos que interesa investigar (relación factores-respuesta).
- ⊙ El costo del experimento, el tiempo de ejecución y la precisión deseada.

4. *Efectuar los experimentos para obtener los valores de las respuestas estudiadas:* el diseño experimental escogido suele estar descrito mediante un número acotado de corridas experimentales. Para cada uno de estos ensayos está establecido el nivel de los factores en estudio. La realización de los mismos permitirá obtener un valor de la variable de respuesta.

5. *Interpretación de los resultados:* Una vez que se dispone de los resultados experimentales pueden calcularse los efectos de los factores, así como sus interacciones. Los tests estadísticos permiten comprobar si los efectos calculados son significativos comparándolos con el error experimental. En el caso de construir un modelo de superficies de respuesta, los coeficientes se calculan por el método de los mínimos cuadrados y la evaluación del modelo debe realizarse haciendo réplicas de ciertos experimentos y aplicando el test de análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés).^[5]

Antes de continuar, es conveniente distinguir entre dos conceptos: el diseño estadístico de experimentos (DEE) y la metodología de superficie de respuesta (MSR). El primero hace referencia a la matriz $N \times k$, donde N es el número de experimentos y k son los factores, mientras que la Metodología de Superficies de Respuesta (MSR) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas utilizadas para modelar y analizar problemas en los que una variable de interés es influenciada por otras. La relación $y = f(x_1, x_2, \dots, x_k)$ entre la respuesta y y los niveles de los k factores $\xi_1, \xi_2, \dots, \xi_k$

representa una superficie. Con k factores la superficie tiene $k+1$ dimensiones, por lo cual si se estudian más de dos factores, habrá que fijarlos para poder graficar dicha superficie.^[6,7,8] La elección adecuada del DEE es muy importante en cualquier investigación que utilice la metodología de las superficies de respuesta. Esto es cierto porque la calidad de la predicción, medida por el tamaño de la varianza del modelo depende, como se verá más adelante, de la matriz de diseño. La mayoría de los DEE son: i) ortogonales, es decir, la varianza de la respuesta esperada, en cualquier punto de la región experimental, se puede expresar como la suma ponderada de las varianzas de los parámetros estimados del modelo, y ii) invariantes por rotación lo que garantiza que el diseño proporcione estimaciones igualmente precisas en todas las direcciones. Además, la determinación de la respuesta óptima equivale a hallar el valor óptimo de y sobre la región experimental (R). Por lo tanto, es imperativo que dicha varianza sea lo más pequeña posible.^[6] En la tabla 2.3 se explican brevemente los DEE más utilizados para los distintos modelos.^[3,9,10,8]

Modelos	Diseño	Número de puntos	Ventajas
Primer orden $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_kx_k + \varepsilon$	Diseño factorial	$N = 2^k$	Es un diseño ortogonal muy económico que posee como desventaja que considera solo dos niveles para cada factor.
	Diseño factorial fraccionado	$N = 2^{k-p}$ <i>Donde p implica la fracción del diseño factorial</i>	Es una fracción del diseño factorial. Son una opción adecuada cuando los recursos son limitados o el número de factores incluidos en el diseño es grande

Tabla 2.3. Diseños de experimentos más utilizados.

Modelos	Diseño	Número de puntos	Ventajas
<p>Segundo orden</p> $y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=1}^k b_{ij} x_i x_j + \varepsilon$	Diseño central compuesto	$N = 2^k + 2k + n_0$	Consiste en una parte factorial, en una cantidad n_0 de puntos centrales y en una parte axial que corresponde a dos puntos axiales en los ejes correspondientes a cada uno de los factores situados a una distancia α . Depende del valor de n_0 para ser ortogonal y es invariante por rotación si $\alpha = \sqrt[4]{2^k}$
	Diseño factorial en tres niveles	$N = 3^k$	Es un diseño ortogonal sencillo que considera tres niveles para cada factor
	Diseño de matriz de Doehlert	$N = k^2 + k + n_0$	Se caracteriza por considerar distinto número de niveles para cada factor y que todos los puntos equidistan del experimento central. Permite extender el dominio mediante el agregado de otro factor.
<p>Orden variable (con modificación en el segundo orden)</p> $y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i x_i + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=1}^k b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{k-1} \sum_{h=1}^{k-2} b_{ijh} x_i x_j x_h + \varepsilon$	Diseños de mezclas	Dependerá del número de factores y del tipo de diseño mezcla	Se utilizan cuando los factores a estudiar son componentes de una mezcla, la función de la respuesta es dependiente de las proporciones relativas de cada componente, no de la cantidad absoluta.

Tabla 2.3 (continuación). Diseños de experimentos más utilizados.

De acuerdo al criterio de distintos autores, para estimar los coeficientes b_i de estos modelos se requieren $N \geq k+1$ valores de respuesta (y).^[3,4,6,7] El análisis de los datos

de las corridas se presenta en una tabla de análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en ingles). En esta tabla se presentan las diferentes fuentes de variación que contribuyen a variación total de los datos (Tabla 2.4). La variación total recibe el nombre de suma de cuadrados total SST, y se calcula de la siguiente manera: ^[7]

$$SST = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^N (y_{ij} - \bar{y})^2 \quad \text{Ec. 2.1}$$

Donde y_{ij} es el valor observado de y en el j -ésima corrida en el grupo i -ésimo e \bar{y} es la media general de la variable de respuesta.

La SST se compone por la suma de la varianza debida al modelo (SSR) y de la varianza correspondiente al error (SSE). La SSR es conocida como la variabilidad entre-grupos, mientras que, la SSE es la variabilidad intra-grupos. Estas varianzas se obtienen aplicando las siguientes ecuaciones: ^[7]

$$SSR = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^N (\bar{y}_i - \bar{y})^2 \quad \text{Ec. 2.2}$$

$$SSE = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^N (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 \quad \text{Ec. 2.3}$$

Donde \bar{y}_i corresponde al valor medio de las N observaciones del grupo i .

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianza	F
Regresión	SSR	$p-1$	$SSR/(p-1)$	$\frac{[SSR/(p-1)]}{[SSE/(N-p)]}$
Residuo	SSE	$N-p$	$SSE/(N-p)$	
Total	SST	$N-1$		

Tabla 2.4. Análisis de varianza, p representa el número de grupos.

En nuestros sistemas, la prueba de significancia de la ecuación de regresión ajustada utiliza la siguiente hipótesis nula (H_0): todos los valores de la variable

respuesta son iguales a la media, que se contrasta con la hipótesis alternativa (H_1): al menos uno de los valores de la variable de respuesta es diferente a la media. La prueba supone que el error tiene un comportamiento normal y utiliza el estadístico F (propuesto por el biólogo y estadístico inglés Ronald Fisher), el cual refleja el grado de similitud existente entre las medias que se están comparando. El valor de F calculado se compara con el valor $F(p-1, N-p)$ tabulado para un determinado nivel de confianza (en general 0.05, lo que equivale a un 95% de confianza). Si el valor calculado es mayor, entonces se rechaza la hipótesis de igualdad, puesto que F indica que ese factor es significativo. ^[3,8,11]

La gran mayoría de los softwares disponibles para este tipo de análisis presentan además otro índice llamado Valor-p el cual indica que para un nivel de confianza del 95% el valor de dicho parámetro debe ser menor a 0.05 para que el efecto de un factor sea significativo.^[3,7] Pese a estos estadísticos, la significancia de cada efecto debe evaluarse para cada caso particular. Además de la prueba de significancia, es importante evaluar la bondad del ajuste del modelo estadístico aplicado. Para este tipo de análisis se utilizan el coeficiente de determinación R^2 y el error absoluto medio (MAE). El estadístico R^2 es la razón entre la variación explicada por el modelo y la variación total. Este coeficiente indica qué proporción de la variación total de los datos está siendo explicada por el modelo adoptado. El MAE es el valor absoluto promedio de los residuos y se calcula a través de la Ec2.4.

$$R^2 = \frac{SSR}{SST} = 1 - \frac{SSE}{SSR} \quad \text{Ec.2. 4}$$

$$MAE = \left| \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^N (y_{ij}^{calc} - y_{ij}^{exp})}{N} \right| \quad \text{Ec.2.5}$$

2.2.1.1 Diseño experimental para mezclas

En el diseño mezcla, los factores experimentales a ser estudiados son ingredientes o componentes de una mezcla, y la función de la respuesta típicamente depende de las proporciones relativas de cada componente, y no de las cantidades absolutas.^[12,13]

Este tipo de diseño, llamado diseño mezcla, nos permite identificar, si existe, una mejor combinación para obtener una respuesta óptima o simplemente, obtener una mejor comprensión del comportamiento del sistema mediante el análisis de las

proporciones de sus componentes. Cabe recordar que en estos casos se deben cumplir con las siguientes limitaciones:^[13]

$$0 \leq X_i \leq 1 \quad i = 1, 2, \dots, q \quad X_1 + X_2 + \dots + X_q = 1$$

Siendo X_i la proporción del componente i en la mezcla de q componentes. Puesto que las proporciones deben sumar una cantidad fija, los factores no se pueden variar independientemente. Consecuentemente, los diseños normalmente usados para investigación y optimización no se pueden aplicar directamente. Además, el espacio de coordenadas rectangular no es la representación más deseable de la región experimental. Por ejemplo para una mezcla de 3 componentes, el espacio del diseño mezcla es un espacio bidimensional que corresponde a un triángulo equilátero.^[12,13]

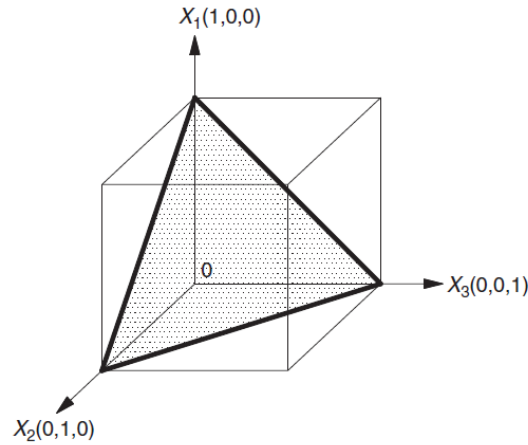


Figura 2.8: Diseño mezcla para un sistema con tres componentes.

Cabe aclarar que debido a consideraciones físicas, teóricas, y económicas se pueden imponer restricciones adicionales a las limitaciones clásicas de este tipo de diseño, con lo cual el dominio experimental de interés no es la totalidad del espacio, sino un subconjunto del mismo.^[13]

El objetivo de un diseño mezcla es encontrar un modelo que permita pronosticar el valor de la variable dependiente en función de sus componentes. Para este tipo de diseño, las superficies de respuestas propuestas por Scheffé son las siguientes:^[14]

Modelo lineal:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i + \varepsilon$$

Modelo cuadrático:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i + \sum_{i<j} \sum_{j=1}^q \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Modelo cubico especial:

$$y = \sum_{i=1}^q \beta_i X_i + \sum_{i<j} \sum_{j=1}^q \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i<j<k} \sum_{k=1}^q \beta_{ijk} X_i X_j X_k + \varepsilon$$

Donde y es la respuesta, ε es el error, β_i representa el efecto del i -ésimo componente puro, β_{ij} el efecto de la interacción entre los componentes i y j y β_{ijk} el efecto de la interacción triple entre los componentes i , j y k . Los parámetros β_i , β_{ij} y β_{ijk} se estiman por mínimos cuadrados o por máxima verosimilitud.

Para la construcción de estas superficies de respuesta debe realizarse un mapeo del dominio experimental sobre la base de un diseño estadístico. Dado que en el presente trabajo de tesis se utilizó un diseño mezcla para 3 componentes, a continuación se presentaran los diseños más utilizados para esta cantidad de factores:^[14–16]

❖ *Diseño Simplex-Lattice*: fue propuesto inicialmente por Scheffé (1958), su característica principal es que los puntos están uniformemente espaciados sobre un simplex, donde el simplex es regularmente el lado de una figura con q vértices en $q-1$ dimensiones. Este tipo de diseño usa $m+1$ valores igualmente espaciados entre 0 y 1 definido por

$$X_i = 0, \frac{1}{m}, \frac{2}{m}, \dots, 1$$

Donde m es el orden del modelo que se está estimando.

El número de puntos de este diseño está dado en forma generalizada por la ecuación 2.6

$$N = \frac{(q + m - 1)!}{m! (q - 1)!} \quad \text{Ec. 2.6}$$

Como se muestra en el gráfico para una mezcla de tres componentes, y usando un modelo cuadrático, el diseño Simplex-Lattice solo contempla las mezclas puras (vértices del espacio experimental) y las mezclas binarias (lados del espacio experimental)

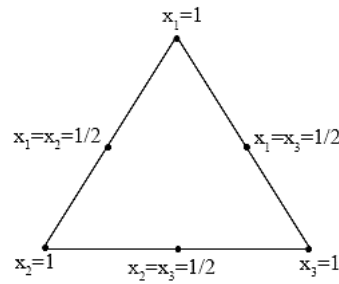


Figura 2.9: Diseño simplex-Lattice para tres componentes

❖ *Diseño Simplex centroide*: fue propuesto por Scheffé en 1963, y a diferencia del diseño simplex-Lattice, incluye observaciones de mezclas en donde los componentes aparecen en igual proporción. Este diseño consiste en $2^q - 1$ combinaciones, donde q equivale al número de factores considerados. Así, para el caso particular de 3 variables se deberán realizar 7 corridas experimentales. En otras palabras el mapeo consiste en analizar los vértices (tratamiento de los colorantes por separado, que en el contexto de este trabajo se denominara tratamientos individuales), mezclas binarias (que son las corridas ubicadas en las aristas del triángulo que representa la región experimental) y una mezcla ternaria (ubicada en el centroide o baricentro del triángulo).

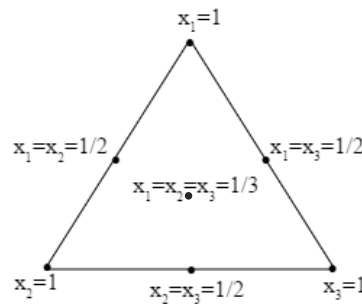


Figura 2.10: Diseño simplex-centroide para tres componentes.

❖ *Diseño simplex con puntos axiales*: los diseños axiales contienen puntos de mezclas de los q componentes dentro de la región simplex, y se recomiendan cuando se desea explorar con mayor detalle el dominio experimental.

Se define al axial de un componente i como una línea que se extiende del punto base $X_i = 0, X_j = 1/(q-1)$ para toda $j \neq i$. Los puntos axiales son posicionados

sobre el axial a una distancia Δ del centroide. Myers y Montgomery^[17] recomiendan que los puntos axiales sean colocados a una distancia $\Delta = (q - 1)/2q$. Es decir que se consideran además de las mezclas del diseño simplex centriode, tres mezclas ternarias adicionales. Una variante de este tipo de diseño fue el seleccionado en este trabajo de tesis para el estudio de degradación de mezclas de los tres colorantes mediante la técnica foto-Fenton.^[18]

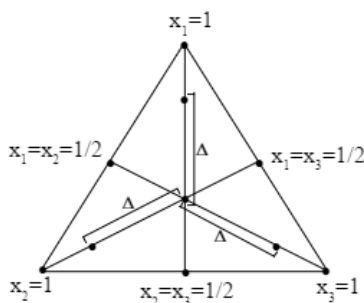


Figura 2.11: Diseño simplex con puntos axiales para tres componentes.

Software

El análisis del diseño estadístico de experimentos fue realizado utilizando la sección de diseño mezcla del programa STATGRAPHICS Centurion XVI versión 16.1.03.^[19]

2.2.2 Aplicación de herramientas de análisis multivariado

Las espectroscopias de absorción UV-vis y de emisión fluorescente son técnicas apropiadas para el estudio de degradación de colorantes individuales y de mezclas de ellos. Estas técnicas permiten la realización de mediciones no intrusivas en mezclas acuosas con componentes en bajas concentraciones. Sin embargo, en muchos casos las especies del sistema estudiado presentan alto solapamiento espectral y la extracción de información cuantitativa no es posible con las herramientas tradicionales de interpretación de datos univariados. En los últimos años, se ha extendido el empleo de métodos quimiométricos para el análisis y la interpretación de conjuntos de datos multivariados.^[20] Los denominados modelos “blandos” permiten obtener una descripción de los datos sin la necesidad de postular un modelo químico o físico a priori. El objetivo de los mismos es explicar las variaciones observadas en los sistemas

utilizando un mínimo de hipótesis “suaves” sobre los datos, para obtener simultáneamente información tanto estructural como mecanística de mezclas complejas. Para muchos sistemas, particularmente aquellos que involucran equilibrios ácido-base, de complejación o cinéticas simples, estas técnicas han permitido la resolución de los espectros “puros” y de los perfiles de concentración. En algunos casos se han podido resolver los perfiles de concentración para mezclas con alto grado de solapamiento espectral entre sus componentes. Entre los modelos blandos de resolución multivariada más empleados para el análisis de datos espectroscópicos se encuentran la resolución multivariada de curvas por cuadrados mínimos alternados (MCR-ALS)^[21–24], y el análisis paralelo de factores (PARAFAC).^[25–29]

2.2.2.1 Resolución Multivariada de Curvas por cuadrados mínimos alternados (MCR-ALS)

La Resolución Multivariada de Curvas, MCR (Multivariate Curve Resolution) es la denominación genérica para una familia de métodos cuyo objetivo es la descomposición bilineal, químicamente significativa, de una respuesta instrumental compleja en las contribuciones vinculadas a cada uno de los N componentes puros en el sistema bajo estudio.^[30–32] En este trabajo, por tratarse de medidas espectrofotométricas, se asumirá que la absorbancia total a cada longitud de onda es la suma de las contribuciones a la absorbancia de cada componente del sistema. La recolección de los espectros de absorción de la mezcla de reacción estudiada para diferentes tiempos de tratamiento nos permitirá obtener la matriz de datos (matriz D). El objetivo del MCR-ALS es descomponer a la matriz D en otras dos matrices C y S correspondientes a los perfiles de concentración y a los perfiles espectrales respectivamente. A continuación se expresa esta descomposición bilineal en forma matricial^[30]

$$\mathbf{D} = \mathbf{CS}^T + \mathbf{E} \quad \text{Ec. 2.7}$$

en donde la matriz E contiene las variaciones no explicadas por el modelo (es decir los residuos). La Ec. 2.7 puede representarse esquemáticamente como:

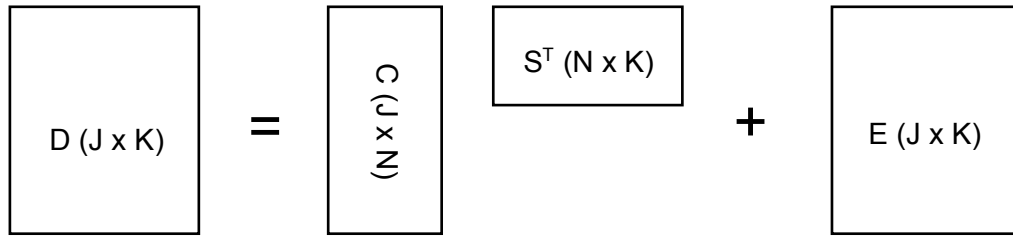


Figura 2.12: Esquema de la descomposición matricial de la matriz D

Matemáticamente, para las mezcla de reacción en estudio se debe cumplir: ^[30]

$$d_{jk} = \sum_{n=1}^N c_{jn} s_{nk}^T + e_{jk} \quad \text{Ec. 2.8}$$

Donde d_{jk} corresponde a la absorbancia de la muestra a un tiempo j para una longitud de onda k , c_{jn} es la concentración del componente n a ese tiempo, s_{nk}^T es la absortividad a la longitud de onda k del componente n y el e_{jk} es el valor residual en dicho punto. El método MCR-ALS utiliza la ecuación 2.8 en forma iterativa, aplicando el algoritmo de mínimos cuadrados alternos ALS (Alternating Least Squares) con restricciones. La convergencia del algoritmo ALS se consigue cuando en dos ciclos consecutivos la diferencia de los residuos entre los datos experimentales y los perfiles calculados por ALS es menor a un valor predeterminado.

Para llevar a cabo un análisis MCR-ALS es necesario seguir una serie de pasos que se representan esquemáticamente en la figura 2.13: ^[30,31,33]

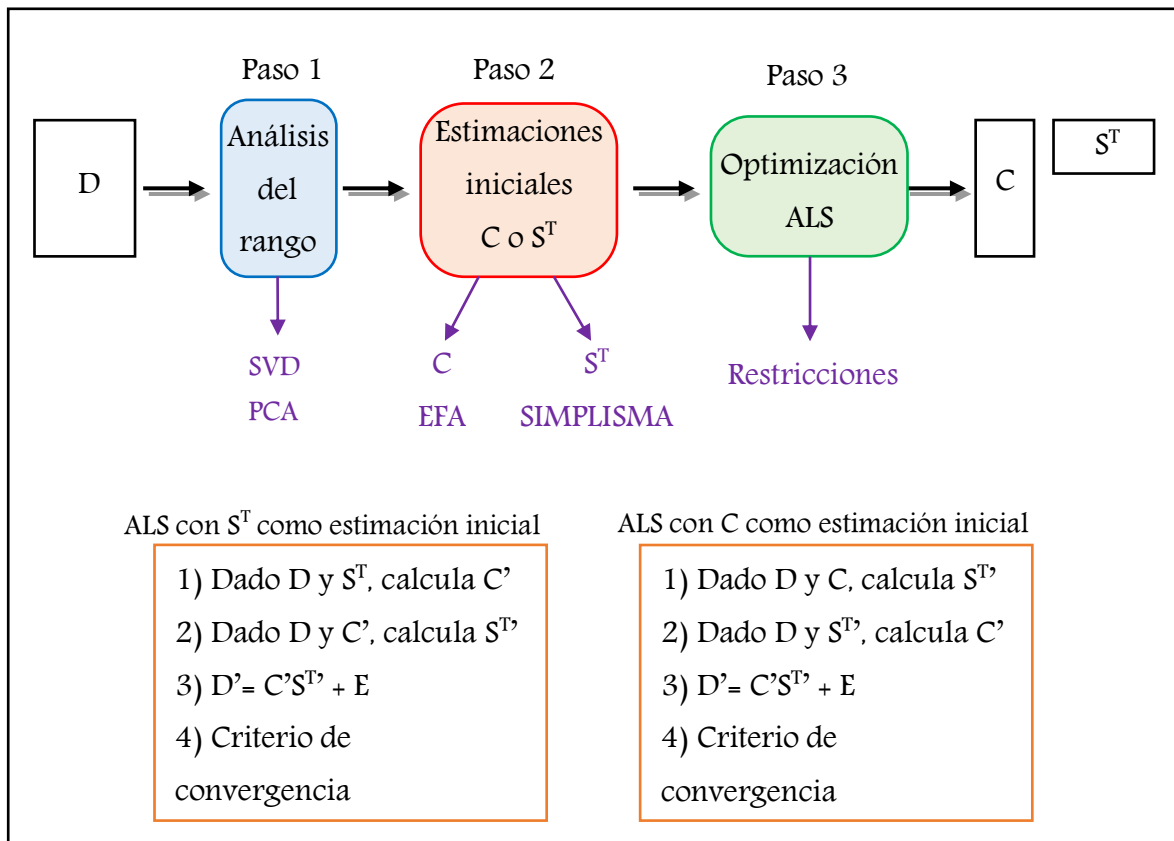


Figura 2.13. Pasos en una descomposición MCR-ALS de la matriz $D(J \times K)$

Paso 1: Estimación del número de componentes.

Para la estimación del número de componentes independientes existen diversas metodologías, entre las más empleadas podemos nombrar el análisis de componentes principales (PCA) y la descomposición en valores singulares (SVD).

El PCA ^[24] es un método matemático bilineal que transforma los datos originales en una combinación lineal de variables no correlacionadas entre sí, llamadas componentes principales (PCs). Donde PC1 explica la máxima variabilidad de la matriz original, PC2 es ortogonal al primer componente y abarca la mayor cantidad de la variación restante, y así sucesivamente, hasta que se explica el total de la variación que está por encima del error experimental de la matriz original.

La SVD ^[24] es una generalización del análisis de autovalores y autovectores para una matrices rectangulares (no cuadradas). Consiste en descomponer la matriz $D(J \times K)$ en tres matrices $U(J \times J)$, $S(J \times K)$ y $V(K \times K)$ de la forma $D = USV^T$, donde las matrices U y V , corresponden a los

vectores singulares “por izquierda” y “por derecha” respectivamente y la matriz S es una matriz diagonal que contiene a los valores singulares.

Paso 2: Necesidad de estimaciones iniciales:

La resolución de curvas por mínimos cuadrados alternos requiere de estimaciones iniciales ya sea de los perfiles de concentración o de los perfiles espectrales antes de iniciar la optimización del algoritmo. Debido a que una buena estimación inicial favorece la convergencia del algoritmo hacia la solución real, en los sistemas estudiados en este trabajo de tesis se utilizó la metodología matemática SIMPLISMA^[30]. Este procedimiento consiste, en primer lugar, en hallar la fila con la mayor desviación estándar relativa. Seguidamente, se procede a la normalización de dicha fila. La segunda variable de mayor “pureza”, además de poseer la mayor desviación estándar, de las folas restantes, deberá presentar la mínima correlación con la primera variable pura encontrada. Por lo tanto se calcula el determinante de la matriz compuesta por las variables puras halladas y la fila de la matriz de datos que aún no ha sido seleccionada. El valor calculado para el determinante será proporcional a la independencia que haya entre las variables puras halladas y la fila seleccionada. Así, el determinante tendrá un valor más alto en la medida que las variables no estén correlacionadas, mientras que, por el contrario para variables correlacionadas dará un valor cercano a cero.^[34] El procedimiento se repite hasta encontrar tantos vectores no correlacionados como componentes se hayan estimado en el paso 1.

Además del algoritmo SIMPLISMA otra metodología utilizada, para la estimación inicial de los perfiles de concentración, ha sido el análisis de factores evolutivo (EFA). El mismo establece y diferencia las regiones de existencia de cada uno de los componentes que hacen variar la señal significativamente por encima del ruido. Esta técnica se basa en la realización de diferentes análisis de componentes principales partiendo del primer espectro y añadiendo sucesivamente un nuevo espectro para cada PCA. El análisis se realiza de principio a fin del proceso y viceversa. El resultado final se obtiene a partir de la evolución de los valores singulares más significativos en cada PCA realizado. Este método para la estimación inicial de los perfiles de concentración permite detectar ventanas temporales en las que aparecen productos o desaparecen reactivos^[35].

Paso 3: Optimización.

Como se mencionó anteriormente, MCR utiliza la Ec 2.7 en forma iterativa, aplicando el algoritmo ALS. A modo de ejemplo, conocida la matriz D y estimada la matriz de espectros S^T , se desea encontrar una matriz C que minimice la suma de cuadrados de los elementos de la matriz de residuos ($E = D - C^{est} * S^T$). Dado que en general, la matriz S no es cuadrada, la estimación de la matriz C se realiza por cuadrados mínimos. Esto se logra empleando el concepto de matriz pseudoinversa que se explicara a continuación.

Partiendo de la descomposición de D ($D = C * S^T$) y haciendo el producto “por derecha” de la matriz S se obtiene:

$$D * S = C * (S^T * S) \quad \text{Ec. 2.9}$$

La matriz $S^T * S$, es cuadrada y por tanto admite inversa. Multiplicando por la inversa de $S^T * S$ se llega a la ecuación 2.10.

$$D * S * (S^T * S)^{-1} = C * (S^T * S) * (S^T * S)^{-1} \quad \text{Ec. 2.10}$$

Donde $(S^T * S) * (S^T * S)^{-1}$ es igual a la matriz identidad y la expresión $S * (S^T * S)^{-1}$ es denominada pseudoinversa de la matriz S^T y se representa como $(S^T)^+$. De esta manera, la ecuación 2.10 puede escribirse como:

$$D * (S^T)^+ = C \quad \text{Ec. 2.11}$$

Puede demostrarse que la matriz C estimada de esta forma corresponde al ajuste óptimo (por cuadrados mínimos) del sistema de ecuaciones lineales definido por la ecuación 2.8 que, al estar sobredeterminado no posee solución única.

Aplicando el mismo razonamiento, pero partiendo de la estimación de C , se obtiene una estimación por cuadrados mínimos para la matriz S^T :

$$(C)^+ * D = S^T \quad \text{Ec. 2.12}$$

De esta manera el proceso iterativo se realiza aplicando alternadamente las Ec. 2.11 y la Ec. 2.12

Cabe destacar que, aun habiendo hecho un buen análisis del número de componentes y teniendo buenas estimaciones iniciales, la factorización de la matriz D puede arrojar vectores sin significado físico debido a la existencia de ambigüedades. Las ambigüedades matemáticas, implican que la resolución de la matriz D puede conseguirse, sin perder calidad de ajuste, con infinitos pares de matrices C y S^T diferentes. Para minimizar el efecto de las mismas se utilizan restricciones que permiten darle un sentido físico-químico a la solución obtenida.

Las restricciones más utilizadas son:

- *No-negatividad*: Se obliga a que tanto los perfiles de concentración como los espectrales sean siempre positivos. Esta restricción es aplicable a resultados espectrofotométricos en donde las contribuciones a la absorbancia total de los componentes de la mezcla son siempre positivas.

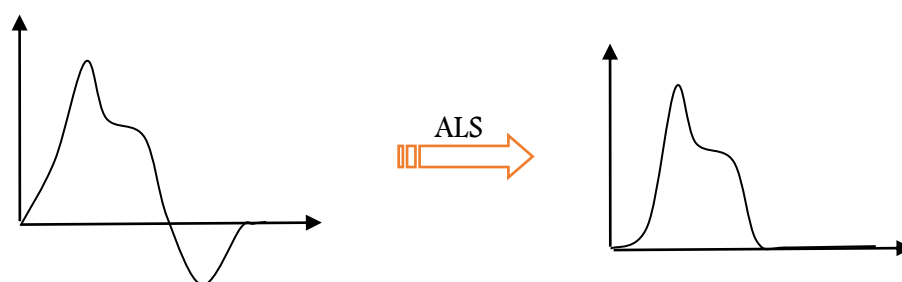


Figura 2.14: Restricción de no negatividad.

- *Igualdad y Unimodalidad*: esta restricción se puede aplicar a aquellos perfiles en los que se presupone que solo poseen un máximo, por lo cual este tipo de restricción suele utilizarse para los perfiles de concentración o para señales que posean forma de pico.

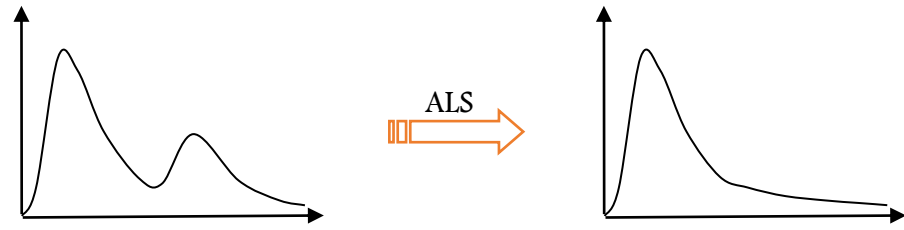


Figura 2.15: Restricción de iunimodalidad.

- *Cierre*: Se utiliza en sistemas donde la cantidad de materia es constante. Se aplica generalmente a los perfiles de concentración en sistemas de reacciones.

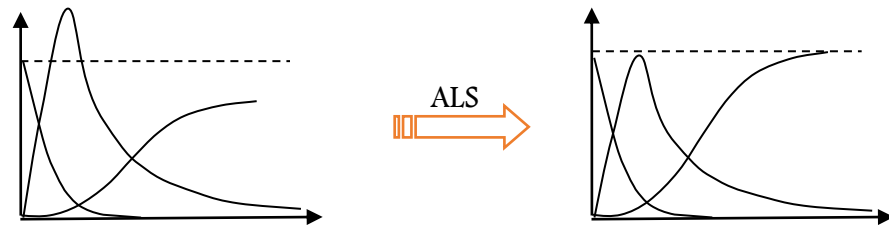


Figura 2.16: Restricción de cierre.

- *Selectividad*: este tipo de restricción puede aplicarse de dos maneras: i) "obligando" al perfil de concentración y / o el espectro de un componente que sea igual a una cierta forma predefinida conocida. ii) indicando la existencia o no de un componente en determinadas condiciones. (por ejemplo a $t=0$ no existen productos de reacción).

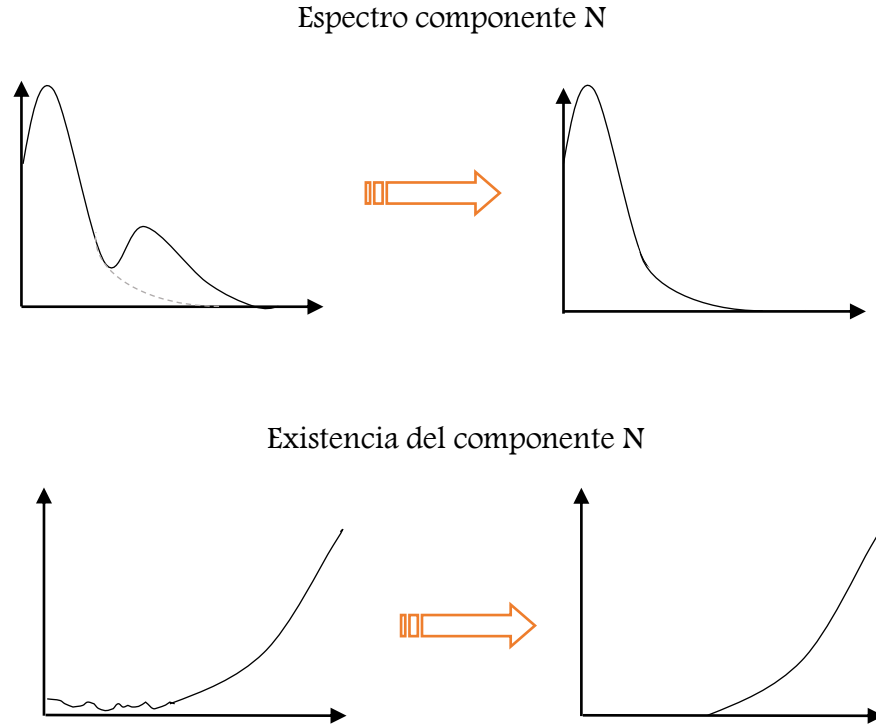


Figura 2.17: Restricciones de igualdad y selectividad.

El conjunto de interfaces gráficas utilizadas, para la realización de los pasos descritos anteriormente, se presenta en el Anexo I.

La calidad de ajuste del modelo MCR-ALS puede ser evaluada con el porcentaje de varianza explicada (R^2), con la desviación estándar de los residuos (σ) y con la falta de ajuste de los datos (LOF). Esta última se define como la diferencia entre los datos de entrada D (ya sea la matriz de datos experimentales crudos o la matriz de datos reproducida por el PCA en el ciclo iterativo anterior) y los datos reproducidos a partir del producto obtenido por CS^T .^[21,36,37]

Las ecuaciones que definen estos parámetros son:

$$R^2 (\%) = \left(\frac{\sum_{i,j} d_{ij}^2 - \sum_{i,j} e_{ij}^2}{\sum_{i,j} d_{ij}^2} \right) * 100 \quad \text{Ec. 2.13}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i,j} e_{ij}^2}{n_r n_c}} \quad \text{Ec. 2.14}$$

$$LOF (\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i,j} e_{ij}^2}{\sum_{i,j} d_{ij}^2}} * 100 \quad \text{Ec. 2.15}$$

donde d_{ij} es un elemento de la matriz de datos experimental, e_{ij} es el valor residual obtenido de la diferencia entre los datos experimentales (matriz D) y los datos reproducidos (producto CS^T de las matrices obtenidas por MCR-ALS), n_r y n_c son el número de filas y de columnas de la matriz D.

Software

Los espectros UV-Vis fueron exportados y convertidos al entorno de trabajo de MATLAB y posteriormente se analizaron con la rutina MCR-ALS Toolbox 1.0 ^[38] en MATLAB 7.7.0 ^[39]

2.2.2.2 Análisis paralelo de factores

El análisis paralelo de factores (PARAFAC) es un método de descomposición que, conceptualmente, puede considerarse como una generalización del análisis de componentes principales (PCA) a mayor número de dimensiones.^[25] Como la descomposición de los datos se realiza en componentes trilineales, el algoritmo PARAFAC se ha aplicado frecuentemente para el análisis de datos espectrofluorimétricos, en particular a conjuntos de matrices de excitación-emisión (EEM) ordenados en arreglos de 3 vías (X).

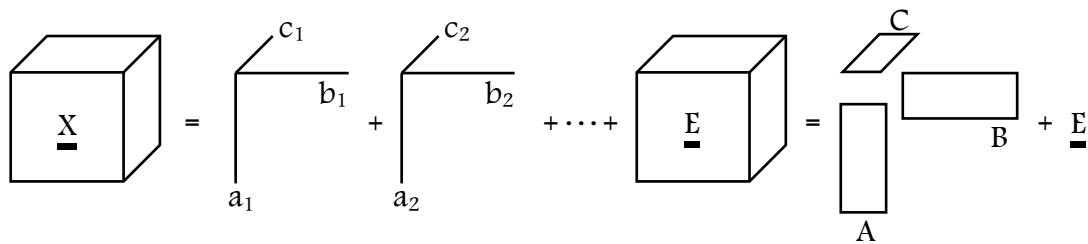


Figura 2.18: Descomposición PARAFAC de datos con estructura de tres vías

El modelo PARAFAC de una estructura de datos de 3 vías viene definido por tres matrices A (I x F), B (J x F) y C (K x F), donde F representa el número de factores, en el caso de tensores contruidos a partir de EEM los índices I, J y K, están asociados a las muestras, las longitudes de onda de emisión y las longitudes de onda de excitación, respectivamente. En este contexto, las matrices A, B y C contienen los perfiles de concentración, los espectros de emisión y los espectros de excitación correspondientes a cada uno de los componentes presentes en las soluciones analizadas.^[26] Matemáticamente, el modelo PARAFAC supone que cada elemento del arreglo de 3 vías $\underline{\mathbf{X}}$ puede representarse como:

$$x_{ijk} = \sum_{f=1}^F a_{if} b_{jf} c_{kf} + e_{ijk} \quad \text{Ec. 2.16}$$

Una de las ventajas principales de este modelo es, en muchos casos, la unicidad de su solución. Aunque el algoritmo es más complejo que el empleado en el método MCR-ALS, la solución se obtiene mediante optimización por mínimos cuadrados alternados y durante el proceso iterativo se pueden imponer restricciones a las soluciones a fin obtener perfiles espectrales con sentido físico o que se ajusten mejor a las características físico-químicas del sistema estudiado. Cabe destacar que frecuentemente los arreglos de datos obtenidos mediante la medición de EEM para diferentes condiciones experimentales obedecen a una estructura trilineal. En estos casos si el número de factores se elige correctamente, el algoritmo PARAFAC es capaz de extraer sin ambigüedades tanto los perfiles de concentración como los perfiles espectrales (de excitación y de emisión), aún para sistemas con alto grado de solapamiento.^[40]

El algoritmo general PARAFAC-ALS fue descrito por R. Bro en 1997 ^[25] y podría esquematizarse de la siguiente manera:

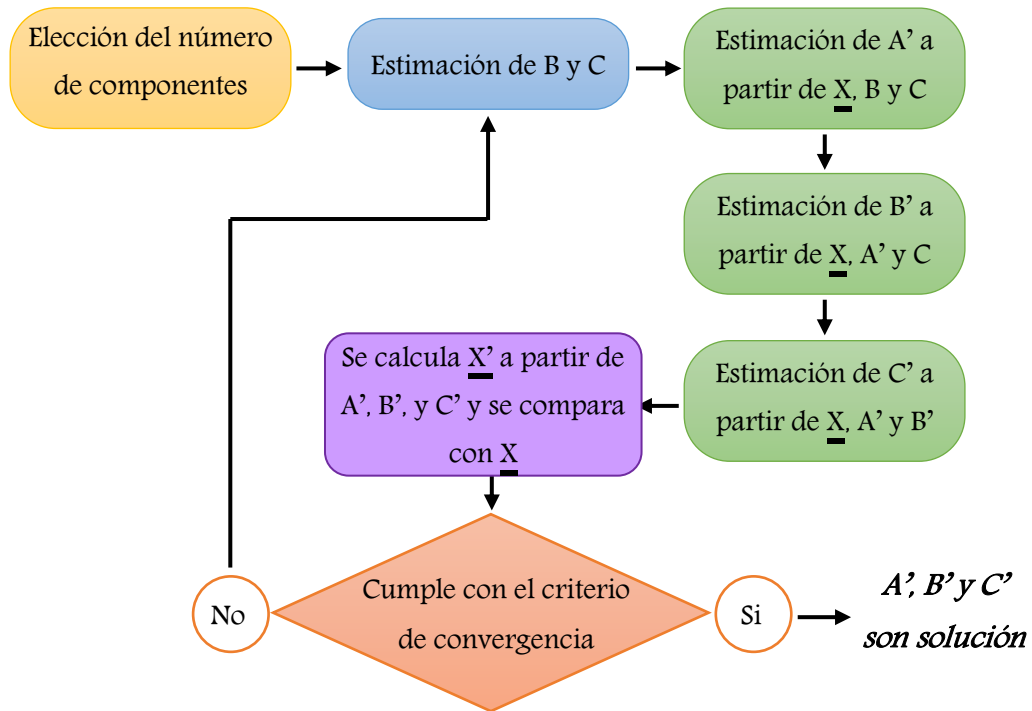


Figura 2.19: Algoritmo general PARAFAC-ALS

Es conveniente aclarar que este algoritmo requiere el desdoblamiento de la hipermatriz de datos en una de sus dimensiones, es decir que a lo largo del proceso iterativo, \underline{X} es desdoblada varias veces de acuerdo con la dimensión que se desea estimar. Por ejemplo \underline{X} puede desdoblarse en una matriz X ($I \times JK$), lo que implica que los datos que inicialmente eran de tres vías se convierten en datos de dos vías.

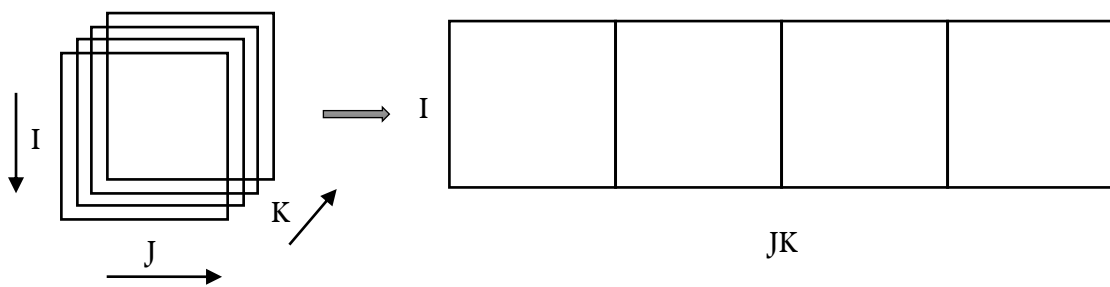


Figura 2.20: Desdoblamiento de la matriz \underline{X}

Entonces la estimación de A (representada por A') se lleva a cabo resolviendo por mínimos cuadrados

$$X = A'Z^T \quad \text{Ec. 2.17}$$

Donde Z (F x JK) es la matriz calculada a partir de las estimaciones de B y C.

Como las matrices no son cuadradas, para realizar esta operación se aplica el mismo razonamiento que el descrito por las ecuaciones 2.9 y 2.10, obteniendo la expresión:

$$A' = X(Z^T)^+ \quad \text{Ec. 2.18}$$

En la ecuación 2.18 $(Z^T)^+$ corresponde a la pseudoinversa de Z^T .

De la misma forma para obtener B', X se desdobla en una matriz X (J x IK) y Z (F x IK) es calculada a partir de A' y C. De manera similar se procede con C'.^[41,42]

Al igual que en MCR la solución del PARAFAC se puede forzar, mediante la aplicación de restricciones, con el fin de obtener un modelo físico-químicamente interpretable.^[43]

El algoritmo ALS mejorará, en cada interacción, el ajuste del modelo. Una desventaja que presenta este análisis es el tiempo requerido para estimar los modelos. A veces son necesarios cientos o miles de interacciones antes de la convergencia. Al igual que en el caso de MCR una buena estimación de valores iniciales para el algoritmo ALS podría, en principio, acelerar el algoritmo y asegurar la convergencia.^[25,27] Han sido propuestos varios tipos de iniciación, como por ejemplo, empezar desde valores iniciales aleatorios^[43], o iniciar el algoritmo de distintos puntos de partida. En algunos trabajos se propone usar valores iniciales basados en la descomposición en valores propios.^[44,45]

En muchos casos los resultados de un modelo PARAFAC tienen una interpretación química directa, por lo que se debe valorar si los mismos son físicamente razonables con respecto al fenómeno químico en estudio. En el caso de la espectroscopia de fluorescencia, deben tenerse en cuenta las características fundamentales del fenómeno estudiado. Entre otros factores debe considerarse que la energía con la que fluoresce una molécula es menor que la energía a la que se excita, debido a las pérdidas energéticas que se producen mientras la misma se encuentra en el estado excitado. Por lo tanto para que los espectros de excitación y emisión obtenidos con el algoritmo sean físicamente aceptables deben presentar las siguientes características generales.^[40]

(1) un mínimo de superposición (por lo general <50 nm) entre los espectros de excitación y espectros de emisión.

(2) los espectros de excitación puede tener múltiples picos, pero los espectros emisión correspondientes a un único estado emisor deben exhibir una sola banda.

(3) Cuando un espectro de excitación tiene dos o más picos, lo que indica contribuciones múltiples a la excitación del mismo estado emisor, debe existir absorción, aunque sea mínima, entre estados consecutivos.

(4) Los espectros de excitación y emisión generalmente no deben exhibir cambios abruptos en distancias de longitud de onda muy cortas.

En la figura 2.21 pueden observarse características espectrales atípicas, que han sido numeradas de la siguiente manera: (1) espectro de excitación muy solapado sobre el espectro de emisión; (2) múltiples picos en el espectro de emisión, (3) no hay evidencia de excitación entre bandas de absorción consecutivas; (4) cambios espectrales abruptos en intervalos cortos de longitudes de onda.

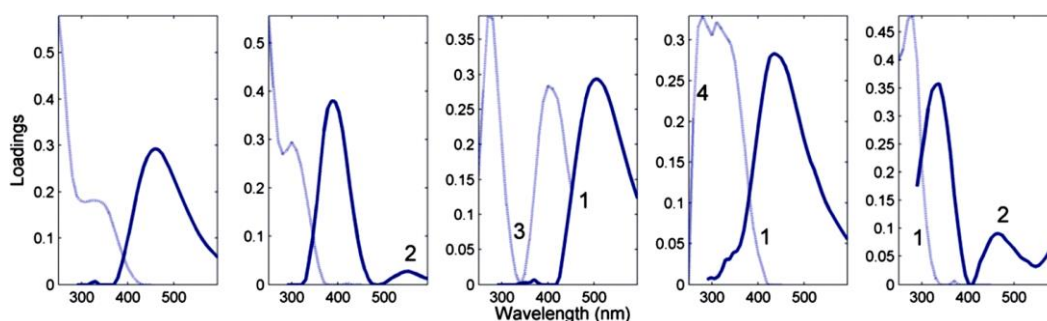


Figura 2.21: Modelo PARAFAC para 5 factores que exhiben características espectrales atípicas.

Nota: Las curvas claras y oscuras representan los espectros de excitación y emisión, respectivamente

Un criterio complementario a la obtención de perfiles físicamente aceptables es el test de evolución de la consistencia del modelo, también llamado consistencia del núcleo. Este test, además, podría estimar la cantidad de componentes en un modelo PARAFAC. Cuando una secuencia de modelos se ejecuta con un número creciente de componentes, el valor de este parámetro tiende a caer bruscamente, cuando se emplean más factores que los necesarios. En la práctica la consistencia del núcleo no siempre es un diagnóstico fiable, sobre todo para mezclas complejas con más de 4 o 5 factores. Una de las alternativas más eficaces para confirmar que un modelo PARAFAC, es apropiado para sistemas de varios factores, es la validación cruzada basada en el análisis por mitades "Half-split". Esta metodología se basa en producir modelos

idénticos de submuestras independientes. Esto es, por lo general, sólo posible para conjuntos de datos relativamente grandes. Harshman^[46] propone la validación de modelos utilizando múltiples mitades de pruebas, donde se crean y se comparan varios modelos, y de acuerdo a la similitud de los resultados obtenidos con el algoritmo PARAFAC para cada subconjunto, se determina el número de factores que correlacionan mejor al sistema en estudio.

Software

Las EEM fueron exportados y convertidos al entorno de trabajo de MATLAB y posteriormente se analizaron con la rutina PARAFAC^[47] en MATLAB 7.7.0^[39]

2.3 Bibliografía

1. Jeffery, G. H., Bassett, J., Mendham, J. & Denney, R. C. Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis. *New York* **5th**, 696 (1989).
2. Allain, C. & Poon, L. Enzymatic Determination of Total Serum Cholesterol. *Clin. Chem.* **20**, 470–475 (1974).
3. Montgomery, D. C. *Design and Analysis of Experiments*. (John Wiley & Sons, 2008).
4. Massart, L. & Vandeginste, B. Handbook of Qualimetrics Part A. 519–556 (1995).
5. Monzón, D. & Monzón Paiva, D. Introducción al diseño de experimentos. *Rev. la Fac. Agron. la Univ. Cent. Venez.* 167 p. (1992).
6. Khuri, A. I. & Mukhopadhyay, S. Response surface methodology. *WIREs Comp Stat* **2**, 128–149 (2010).
7. Cornell, J. A. *How to Apply Response Surface Methodology*. (American Society for Quality Control, 1990).
8. Sarabia, L. a & Ortiz, M. C. 1.12 – Response Surface Methodology. *Compr. Chemom.* 345–390 (2009). doi:10.1016/B978-044452701-1.00083-1
9. Ferré, J. & Rius, F. X. Introducción al diseño estadístico de experimentos. 1–12 (1997).
10. Gutiérrez Pulido, Humberto, De La Vara Salazar, R. *Análisis y diseño de experimentos*. (2008).
11. SAS Institute Inc. Concepts of experimental design. *Biostat. Anim. ...* 34 (2005).
12. Cornell, J. A. *Experiments whit mixture: designs, models, and the analysis of mixture data*. **895**, (JOHN WILEY & SONS, INC., 2002).
13. Voinovich, D., Campisi, B. & Phan-Tan-Luu, R. *Comprehensive Chemometrics*. *Comprehensive Chemometrics* (Elsevier, 2009). doi:10.1016/B978-044452701-1.00084-3
14. Schefflé, H. Experiments With Mixtures. *R. Stat. Soc.* **20**, 344–360 (1958).
15. Schefflé, H. The Simplex-Centroid Design for Experiments with Mixtures. *R. Stat. Soc.* **34**, 187–220 (1963).
16. Cornell, J. A. Some Comments on Designs for Cox ' s Mixture Polynomial. *Technometric* **17**, 25–35 (1975).
17. Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*. (John Wiley & Sons, 2016).
18. Eriksson, L., Johansson, E. & Wikstrom, C. Mixture design — design generation ,

- PLS analysis , and model usage. (1998).
19. <http://www.statgraphics.net/>.
20. Zhang, Q., Wang, Y., Ni, Y. & Kokot, S. Analysis of Complex Molecular Systems: The Impact of Multivariate Analysis for Resolving the Interactions of Small Molecules with Biopolymers – A Review. *Anal. Lett.* 140224055243009 (2014). doi:10.1080/00032719.2013.865202
21. Jaumot, J., Gargallo, R., De Juan, A. & Tauler, R. A graphical user-friendly interface for MCR-ALS: A new tool for multivariate curve resolution in MATLAB. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **76**, 101–110 (2005).
22. Ni, Y., Su, S. & Kokot, S. Small molecule–biopolymer interactions: Ultraviolet–visible and fluorescence spectroscopy and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* **628**, 49–56 (2008).
23. Gholivand, M.-B., Jalalvand, A. R., Goicoechea, H. C., Gargallo, R. & Skov, T. Chemometrics: an important tool for monitoring interactions of vitamin B7 with bovine serum albumin with the aim of developing an efficient biosensing system for the analysis of protein. *Talanta* **132**, 354–65 (2015).
24. Tauler, R. Multivariate curve resolution applied to second order data. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **30**, 133–146 (1995).
25. Bro, R. PARAFAC. Tutorial and applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **38**, 149–171 (1997).
26. Andersen, C. M. & Bro, R. Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation–emission data. *J. Chemom.* **17**, 200–215 (2003).
27. Klaas, N., Faber, M., Bro, R. & Hopke, P. K. Recent developments in CANDECOMP / PARAFAC algorithms : a critical review. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **65**, 119 – 137 (2003).
28. Moeller, G. & Garzón, M. Desarrollo de tecnologías no convencionales para el tratamiento de efluentes de la fabricación de colorantes del tipo azo. *Anu. IMTA* 77–85 (2003).
29. Yang, L., Han, D. H., Lee, B. M. & Hur, J. Characterizing treated wastewaters of different industries using clustered fluorescence EEM-PARAFAC and FT-IR spectroscopy: Implications for downstream impact and source identification. *Chemosphere* **127**, 222–228 (2015).
30. de Juan, A. & Tauler, R. Multivariate Curve Resolution (MCR) from 2000: Progress in Concepts and Applications. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **36**, 163–176 (2006).
31. Rutan, S. C., de Juan, A. & Tauler, R. 2.15 – Introduction to Multivariate Curve Resolution. *Compr. Chemom.* 249–259 (2009). doi:10.1016/B978-044452701-1.00046-6

32. Tauler, R., Kowalski, B. & Fleming, S. Multivariate Curve Resolution Applied to Spectral Data from Multiple Runs of an Industrial Process. *Anal. Chem.* **65**, 2040–2047 (1993).
33. Tauler, R. & de Juan, A. *Fundamentals and Analytical Applications of Multiway Calibration. Data Handling in Science and Technology* **29**, (Elsevier, 2015).
34. Windig, W. & Guilment, J. Interactive Self-Modeling Mixture Analysis. *Anal. Chem.* **63**, 1425–1432 (1991).
35. Fernández, C., Larrechi, M. S. & Callao, M. P. Study of the influential factors in the simultaneous photocatalytic degradation process of three textile dyes. *Talanta* **79**, 1292–1297 (2009).
36. Jaumot, J., de Juan, A. & Tauler, R. MCR-ALS GUI 2.0: New features and applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **140**, 1–12 (2015).
37. Fernández, C., Pilar Callao, M. & Soledad Larrechi, M. UV–visible–DAD and 1H–NMR spectroscopy data fusion for studying the photodegradation process of azo–dyes using MCR–ALS. *Talanta* **117**, 75–80 (2013).
38. Tauler, R. MCR-ALS Toolbox 1.0. <http://www.mcrals.info/> (2005). Available at: <http://www.mcrals.info/>.
39. Mathworks. . <http://www.mathworks.com/> (2008). Available at: <http://www.mathworks.com/>.
40. Murphy, K. R., Stedmon, C. A., Graeber, D. & Bro, R. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. *Anal. Methods* **5**, 6557 (2013).
41. Kowalski, B. & Seasholtz, M. Recent developments in multivariate calibration. *J. Chemom.* **5**, 129–145 (1991).
42. Lorber, A. Quantifying chemical composition from two-dimensional data arrays. *Anal. Chim. Acta* **164**, 293–297 (1984).
43. Harshman, R. A. & Lundy, M. E. PARAFAC: Parallel factor analysis. *Comput. Stat. Data Anal.* **18**, 39–72 (1994).
44. Li, S. & Gemperline, P. J. Eliminating complex eigenvectors and eigenvalues in multiway analyses using the direct trilinear decomposition method. **7**, 77–88 (1993).
45. Sands, R. & Young, F. W. Component models for three-way data: An alternating least squares algorithm with optimal scaling features. *Psychometrika* **45**, 39–67 (1980).
46. Harshman, R. A. *Research methods for multimode data analysis*. (Praeger, 1984).
47. Bro, R. The N-way Toolbox. <http://www.models.life.ku.dk/> (2001).



CAPÍTULO 3

ENSAYOS PRELIMINARES

En la etapa inicial de nuestras investigaciones se realizaron diversos ensayos preliminares relacionados con:

- el comportamiento espectral de los colorantes frente al pH.
- la complejación entre los colorantes y reactivos del proceso tipo-Fenton.
- el comportamiento cromatográfico de los colorantes y sus mezclas.
- la comparación de la evolución cinética analizada por distintas técnicas analíticas.

3.1 Comportamiento frente al pH

Estudios espectrofotométricos realizados a los colorantes AB y OG, entre pH 2 y pH 8.5 no mostraron variaciones en sus espectros. Por el contrario, el colorante AR presenta dos formas ácido-base con un $pK_a = 5.75$. Las formas protonada y deprotonada que se muestran en la Figura 1 exhiben bandas en la región visible con máximos en el espectro UV-Vis ubicados a 422 nm y 517 nm, respectivamente.

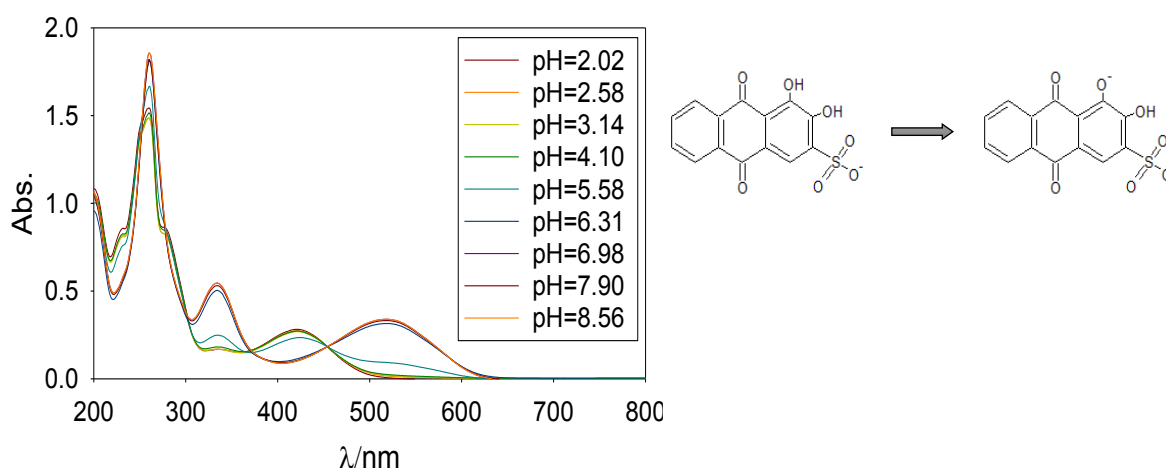


Figura 3.1: Espectros a distintos pH de la Alizarina Roja S y estructuras correspondientes.

3.2 Estudios de complejación

La existencia de complejos entre los colorantes a degradar y el catalizador a temperatura ambiente se caracterizó empleando medidas espectrofotométricas. Para las experiencias se utilizaron concentraciones de colorante y de Fe(III) entre 0 y 1.5 mM. Todas las soluciones se prepararon en solución acuosa a pH=3.0. Se realizaron ensayos preliminares destinados a analizar la complejación entre los diferentes sustratos y el catalizador. Los colorantes Negro Acido 1 y Naranja G no mostraron evidencias de complejación con el catalizador. Por el contrario, la Alizarina Roja S y el catión Fe(III) forman un complejo de estequiometría 1:1 en el dominio experimental ensayado^[1,2]. Dicha estequiometría fue definida a partir del análisis de los espectros obtenidos, manteniendo la concentración de Fe(III) constante y variando la de colorante o viceversa. La constante condicional de equilibrio (K) se obtuvo por ajuste de la ecuación. 3.1. La misma surge de la combinación de la ley de Lambert-Beer y del planteo del equilibrio de la formación del complejo.

$$f = a_0 + \Delta\epsilon \times b \times \frac{(K \times (M_0 + L_0) + 1) - \sqrt{(K \times (M_0 + L_0) + 1)^2 - 4 \times K^2 \times M_0 \times L_0}}{2K} \quad \text{Ec. 3.1}$$

Donde a_0 es la absorbancia de la solución inicial que contiene el ligando libre; M_0 y L_0 son, respectivamente, la concentración inicial del metal y concentraciones de ligando, b es la longitud del camino óptico, $\Delta\epsilon$ es la diferencia de absorptividades molares entre el complejo y el ligando a la longitud de onda de análisis y K es la constante condicional para la formación de complejo de estequiometría 1:1.^[3] Cabe aclarar que esta ecuación solo es válida cuando el metal no absorbe en la longitud de onda fijada para el análisis de la formación del complejo. El complejo Fe-AR presenta un máximo de absorción alrededor de los 560 nm y tiene un coeficiente de extinción cercano a $3000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Para la constante condicional de formación a pH 3.0, se estimó un valor de $\log K \approx 5.4$ a partir del ajuste de los datos experimentales a la ecuación. 3.1 (grafico inserto en la figura 3.2).

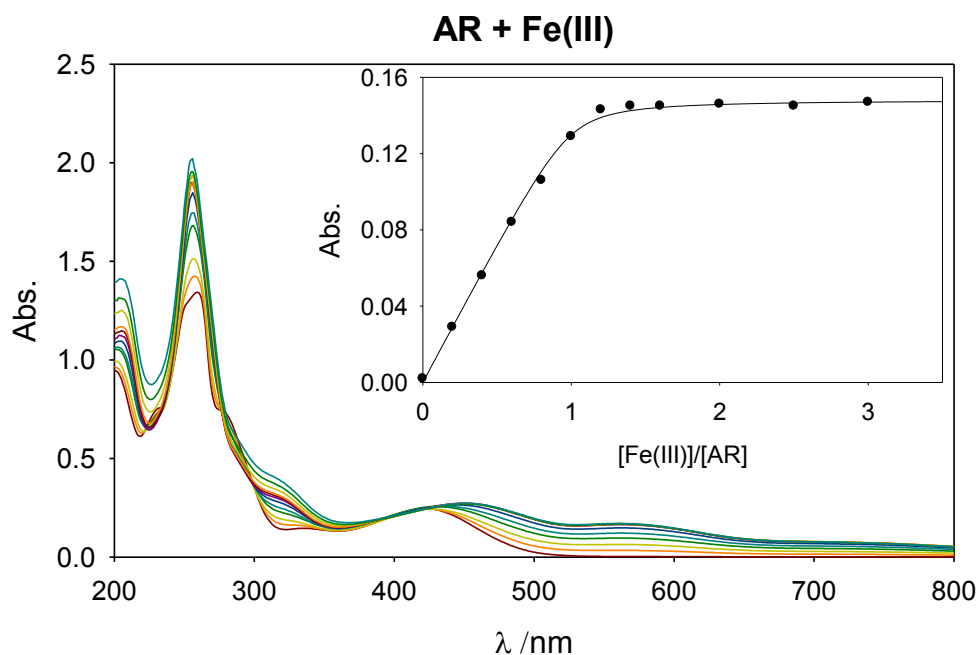


Figura 3.2: Formación de complejos entre el colorante Alizarina Roja S y Fe (III) Inserciones: aumento de $[Fe(III)]$ en constante $[AR]_0 = 2.5 \times 10^{-4} M$.

3.3 Estudios cromatográficos

Al realizar el estudio cromatográfico de los contaminantes (Figura 3.3) se encontró que los colorantes utilizados, al ser sustancias comerciales (para su empleo en procesos de tinción), no son sustancias puras. Si bien para el AB y el OG los cromatogramas obtenidos fueron relativamente aceptables, en el caso de la Alizarina Roja S, el seguimiento de la cinética de decoloración resulta difícil por esta técnica debido a la forma de los cromatogramas obtenidos. (Figura 1c)

En este contexto, y dado que la técnica cromatográfica es relativamente costosa, se ha reservado el empleo de esta técnica para el monitoreo de las cinéticas de los colorantes solo a casos puntuales y con el objetivo de comparar los perfiles de concentración obtenidos por HPLC con los estimados a partir de medidas espectroscópicas realizadas sobre las mezclas de reacción.

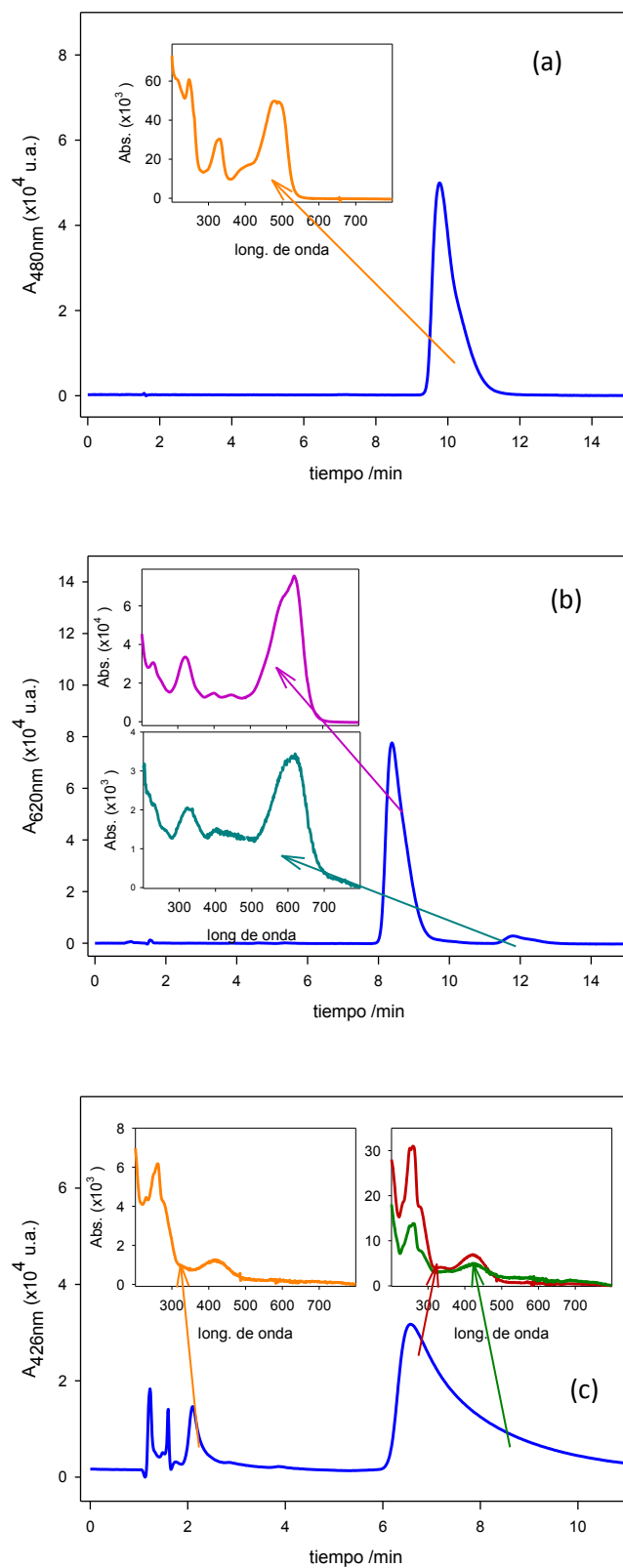


Figura 3.3: Cromatogramas de (a) OG, (b) AB, (c) AR.

3.4 Análisis cinético preliminar

Como primer estudio de la decoloración se realizaron análisis comparativos entre los perfiles de concentración de los contaminantes obtenidos por cromatografía y los estimados a partir del seguimiento de la absorbancia a la longitud de onda donde los colorantes presentan sus máximos de absorción característicos.

En la figura 3.4 puede visualizarse que los decaimientos de los perfiles medidos por HPLC son significativamente más pronunciados que los obtenidos por el decaimiento de la absorbancia medida en los máximos de absorción de los contaminantes en estudio. Este resultado sugiere que algunos productos de reacción son coloreados y también absorben en las regiones asociadas a los máximos de absorción de los colorantes estudiados. En el capítulo 4 se explicará la metodología utilizada para resolver estas dificultades en forma cualitativa.

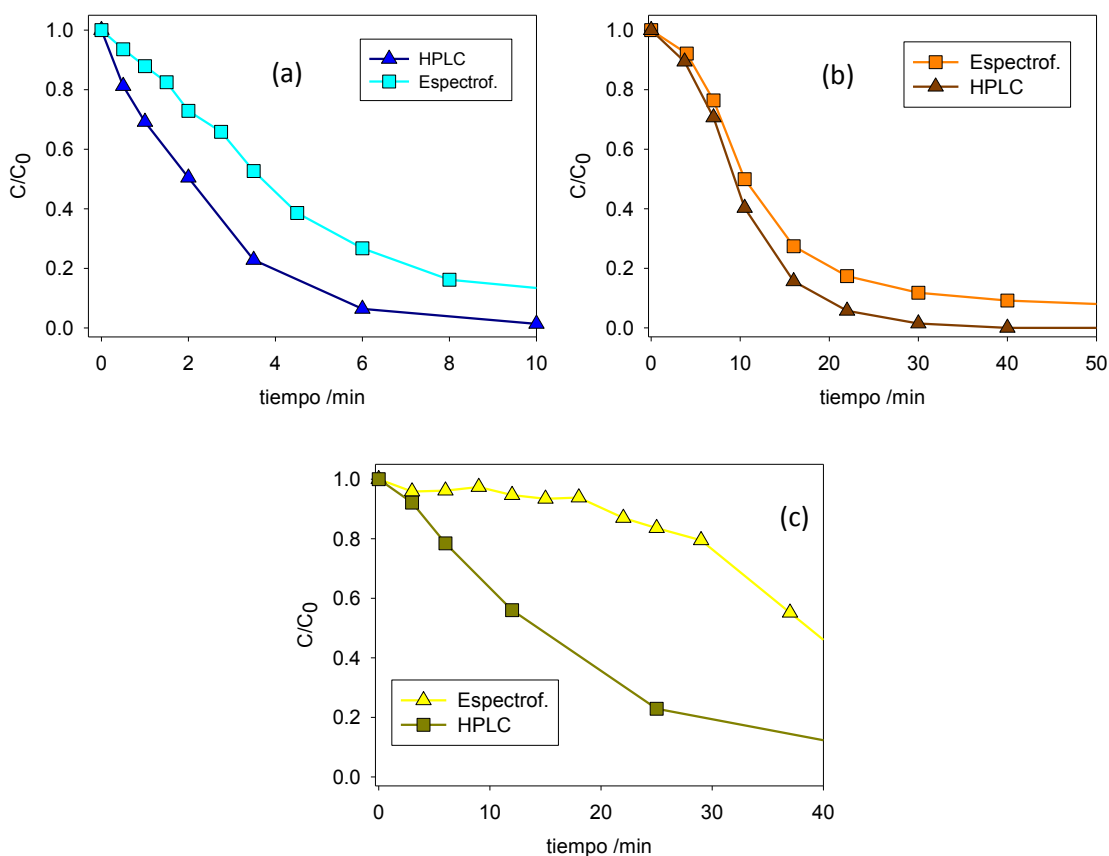


Figura 3.4. Comparación entre medida espectrofotométrica y cromatográfica para los colorantes estudiados. (a) AB, (b) OG (c) AR

3.5 Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en los ensayos preliminares presentados en este capítulo se resumen a continuación.

- ♦ De los tres contaminantes estudiados, en el rango de valores de pH ensayado solo la AR presenta un equilibrio ácido-base con un $pK_a=5.75$, por lo tanto al pH de los sistemas Fenton la forma de la AR predominante es la forma protonada de la Figura 3.1.
- ♦ Los colorantes AB y OG no mostraron evidencia de complejación con el catalizador en el dominio experimental ensayado. Mientras que la Alizarina Roja S y el Fe(III) forman un complejo de estequiometría 1:1, con una banda de absorción centrada en 560 nm y un coeficiente molar de extinción cercano a $3.0 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Para la constante condicional de formación a pH 3.0, se estimó un valor de $\log K \approx 5.4$ empleando la ecuación 3.1.
- ♦ El estudio cromatográfico permitió establecer que los colorantes comerciales utilizados para este trabajo de tesis no son sustancias puras y por lo tanto su cuantificación por HPLC tiene interés relativo.
- ♦ De la comparación entre los perfiles cinéticos estimados mediante el monitoreo de las absorbancias y los obtenidos por HPLC se deduce que, algunos de los productos de reacción pueden presentar absorción de la radiación en longitudes de onda correspondientes a las bandas de los contaminantes y por lo tanto pueden interferir considerablemente en la calidad de las estimaciones.

3.6 Bibliografía.

1. Caram, B. F., Costante, M., Somma, S. & García Einschlag, F. S. Complejación de Fe(III) o Cu(II) con Alizarina en procesos Fenton. (2015).
2. Costante, M., Somma, S., Rodriguez Nieto, F. & Carlos, L. Degradacion del colorante Alizarina Roja S en sistemas tipo Fenton en ausencia de irradiación. *Congreso de Ciencias Ambientales* (2013).
3. Nichela, D. *et al.* Degradation kinetics of hydroxy and hydroxynitro derivatives of benzoic acid by fenton-like and photo-fenton techniques: A comparative study. *Appl. Catal. B Environ.* **98**, 171–179 (2010).

PARTE II

ANÁLISIS CINÉTICO

“Lo que caracteriza al hombre de ciencia no es la posesión del conocimiento o de verdades irrefutables, sino la búsqueda desinteresada e incesante de la verdad”

Karl Popper



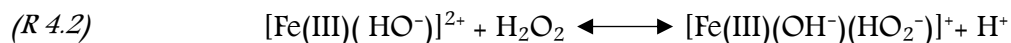
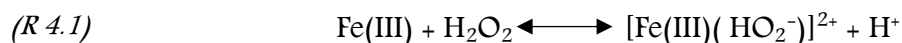
CAPÍTULO 4

PROCESO TIPO-FENTON TRATAMIENTO DE SOLUCIONES CON UN SOLO COLORANTE

4.1 Introducción

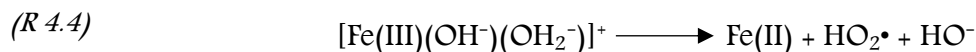
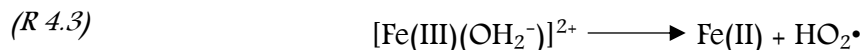
Como se mencionó en el Capítulo 1, la combinación entre peróxido de hidrógeno y sales de Fe(II), se conoce con el nombre de Reactivo de Fenton. En estas soluciones el Fe(II) descompone al H_2O_2 generando radicales $\cdot\text{OH}$, con alto poder oxidante. Por analogía, la combinación entre peróxido de hidrógeno y sales de otros cationes de metales de transición, recibe el nombre de sistema tipo-Fenton. El ejemplo más común es aquel en que se utiliza Fe(III) como catalizador. En este caso también se da la formación de especies oxidantes por descomposición de H_2O_2 . El mecanismo clásico para estos sistemas, derivado del propuesto por Barb y colaboradores,^[1,2] tiene como etapa de iniciación el proceso representado por la R 1.2.

En muchos trabajos se ha estudiado la formación de complejos entre H_2O_2 y Fe(III). En un estudio sobre la estabilidad de quelatos de Fe(III), Graf y colaboradores^[3] encontraron que al menos una posición de coordinación en el Fe(III) debe estar ocupada por un ligando lábil (como el H_2O) para que ocurra el ataque del H_2O_2 al Fe(III). Para el Fe(III) acuoso, han sido identificados los siguientes equilibrios:



Debido a la tendencia del Fe(III) a formar complejos lábiles, estos equilibrios, que se alcanzan casi instantáneamente, probablemente involucran coordinación de esfera interna del peróxido con el metal.

El paso limitante en la descomposición del H_2O_2 mediante la reacción global R1.2 es usualmente la disociación reductiva del complejo Fe(III)-peróxido

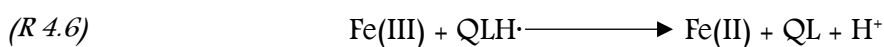


Estas reacciones son fuentes de Fe(II) que, posteriormente, reacciona con H_2O_2 para formar $\cdot\text{OH}$. De Laat y Gallard demostraron que la velocidad de descomposición de H_2O_2 en presencia de Fe(III) depende fuertemente de las condiciones de reacción y que la misma puede ser descripta teniendo en cuenta la rápida formación de complejos Fe(III)-hidroperóxido seguida de su lenta descomposición.^[4] Como puede observarse, la R 1.2, presentada en el capítulo 1, es la combinación de las últimas cuatro reacciones.

Al comparar las constantes de velocidad de los procesos R 1.1 y R 1.2, es claro que, en ausencia de otros reductores de Fe(III), la reacción R 1.2 será la etapa limitante de los sistemas tipo-Fenton en mezclas de reacción que tienen como reactivo inicial sales férricas.

Estudios previos realizados para comprender el comportamiento de las velocidades de las reacciones tipo-Fenton catalizadas por Fe(III) en función del pH permiten observar un máximo a valores de pH ligeramente menores a 3,0^[8]. Esto ocurre por dos motivos. En primer lugar, a menos que haya un agente ligante presente, el Fe(III) comienza a precipitar a valores de pH superiores a 3,0 debido a la formación de oxohidróxidos inestables en solución debido a su baja solubilidad. En segundo lugar, la concentración de $[\text{Fe(III)(HO}_2^-)]^{2+}$ alcanza un máximo alrededor de pH 3.^[9]

La presencia de materia orgánica puede afectar notablemente la cinética de degradación de H_2O_2 en estos sistemas. Los compuestos orgánicos pueden actuar como ligandos o participar en ciclos redox, incrementando notablemente las velocidades de las etapas de propagación de la cadena. Estudios de radiólisis han demostrado que intermediarios de la degradación del fenol, tales como hidroquinona, semiquinona y benzoquinona, pueden participar en reacciones de transferencia de electrones. En los sistemas Fenton varios autores^[5-7] han descrito que cantidades catalíticas de compuestos de tipo quinónico (tales como hidroquinona y catecol) aumentan drásticamente las velocidades de oxidación de materia orgánica mediada por H_2O_2 , ya que pueden reducir rápidamente los iones férricos a iones ferrosos, aportando una vía alternativa de generación de Fe(II), según describe el siguiente ciclo.



donde QL corresponde a una forma general de un compuesto quinónico.

En el presente capítulo se realizará un estudio detallado de la influencia de las concentraciones de catalizador, oxidante y sustrato sobre las cinéticas de decoloración de los colorantes Negro Acido 1 (AB), Naranja G (OG) y Alizarina Roja S (AR).

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Reactivos y técnicas analíticas

Los ensayos se realizaron en reactores de 250 mL con agitación continua, en ausencia de irradiación, a pH 3.0 y 25 °C. Se utilizó Negro Acido 1 (para microscopía, Anedra), Naranja G (para microscopía, Anedra) y Alizarina Roja S (para microscopía, Biopack), $\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ($\text{Cl}^- < 0.005\%$, Aldrich), H_2SO_4 (98%, Merck). En todos los casos los compuestos fueron usados sin previa purificación y las soluciones fueron preparadas en el día, utilizándose agua de calidad milli-Q. El espectrofotómetro usado fue un equipo Shimadzu (UV-1800) y se usaron celdas de cuarzo de 0.2 o 1.0 cm de camino óptico. El pH de las soluciones fue monitoreado usando un pH-metro Radiometer (PHM220). Los espectros registrados fueron analizados con los software SIGMAPLOT 10.0^[10] y EXCEL 2013.^[11]

4.2.2 Métodos

En diversos trabajos que utilizan los PAOs para degradar colorantes, se monitorea el avance del tratamiento a partir de medidas de decoloración (a través del decaimiento de la absorbancia a la longitud de onda máxima característica del colorante) y/o medidas de degradación utilizando HPLC. Además un número menor de publicaciones estudian parámetros tales como la toxicidad, la demanda biológica de oxígeno (DBO), y la mineralización del sistema por medio de medidas de carbono orgánico total (TOC) y la demanda química de oxígeno (DQO).

En este trabajo de tesis, con el fin de comparar las cinéticas de decoloración en diferentes condiciones experimentales y para los distintos sustratos, se analizó la variación del área bajo los espectros de absorción asociados a las mezclas de reacción, en función del tiempo de tratamiento. La integración se realizó en el rango de longitudes de onda comprendido entre los 400 y los 700 nm, correspondientes a la región visible del espectro.

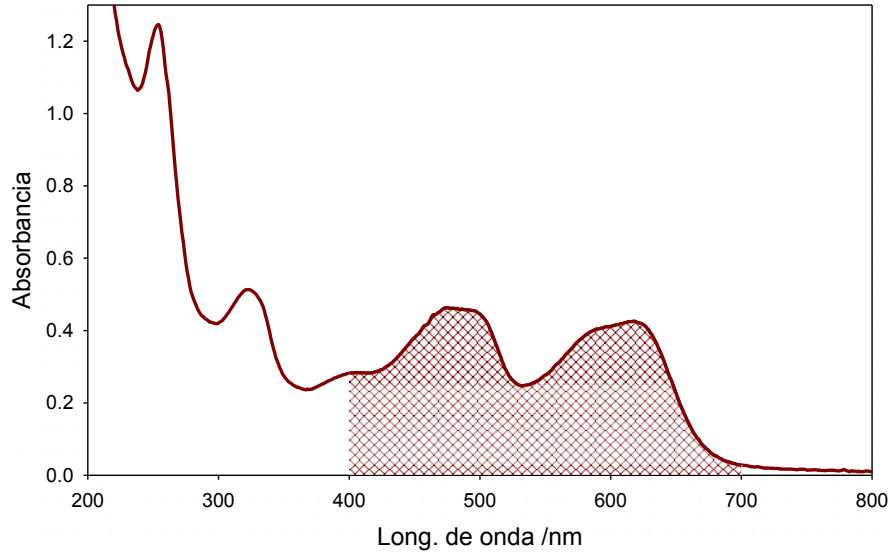


Figura 4.1: Área bajo la curva entre 400 y 700 nm.

$$Area(t) = A(t) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} Abs(t, \lambda) d\lambda \cong \sum_{i=1}^n \overline{Abs(t, i)} \cdot \Delta\lambda(i) \quad Ec. 4.1$$

Tal como muestra la ecuación 4.1, la estimación numérica de las integrales se realizó mediante la sumatoria de las absorbancias promedio en intervalos de 1 nm de ancho. Para el análisis comparativo de las cinéticas de decoloración en el presente trabajo de tesis se emplearon áreas normalizada definidas como:

$$A_N(t) = \frac{A(t)}{A(0)} \quad Ec. 4.2$$

Mientras que los porcentajes de decoloración se calcularon con la siguiente ecuación:

$$Decoloración = \left(1 - \frac{A(t)}{A(0)}\right) \times 100\% \quad Ec. 4.3$$

Donde $A(t)$ y $A(0)$ corresponden a las áreas calculadas con la ecuación 4.1 para los tiempos t y 0 , respectivamente.

4.2.2.2 Espectroscopía de fluorescencia

La espectroscopía de fluorescencia es un método muy utilizado en mediciones analíticas y en la investigación científica. Las razones principales por las que en los últimos años se incrementó sustancialmente el uso de esta técnica espectroscópica son: su gran sensibilidad, su especificidad (permite identificar moléculas específicas en matrices complejas) y el alto nivel de información obtenido a partir de las matrices de emisión-excitación (EEM).^[12,13] La principal desventaja asociada a estas técnicas deriva del hecho de tener menos aplicaciones que la espectroscopía de absorción, ya que es relativamente limitada la cantidad de sistemas químicos que exhiben fluorescencia. Sin embargo, aun cuando el analito no exhiba fluorescencia natural, se pueden usar sondas fluorescentes que se unan a grupos funcionales específicos de la molécula en estudio (Fluoróforos).^[12]

4.3 Resultados y discusión

4.3.1 Comportamiento espectral

En la Figura 4.2 se muestran los espectros registrados a diferentes tiempos de tratamiento para tres experimentos iniciados con las mismas concentraciones molares de sustrato, de catalizador y de oxidante.

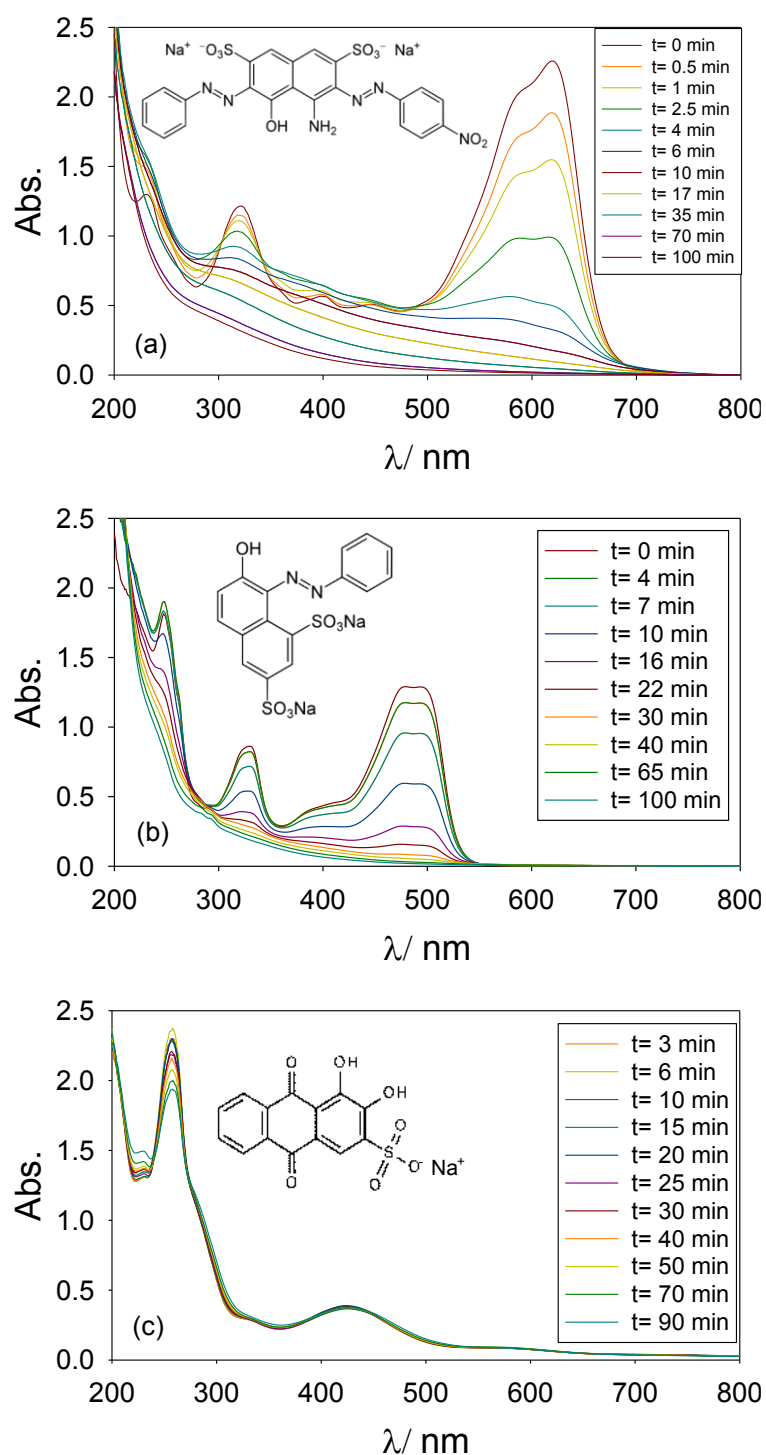


Figura 4.2: Espectros registrados a diferentes tiempos en las mismas condiciones ($[MO]=0.162\text{ mM}$, $[H_2O_2]=5\text{ mM}$, $[Fe(III)]=0.05\text{ mM}$ para (a) AB, (b) OG, (c) AR.

Puede apreciarse que para cada colorante estudiado existe una compleja evolución de los espectros correspondientes. Para los azo-colorantes se observó una disminución marcada de la absorbancia en la zona cercana al máximo de absorción del

contaminante. En cambio, en el estudio de la AR se advirtió una moderada disminución de la absorbancia en la banda del UV, mientras que, no se observaron cambios significativos en la región visible. Dado que la principal especie reactiva, el radical $\cdot\text{OH}$, presenta ordenes de reactividad similares para diferentes estructuras aromáticas,^[14] la diferencia en el comportamiento cinético que presenta el sistema con AR puede atribuirse a la formación del complejo AR-Fe(III), discutido en el capítulo 3. En este contexto, los resultados obtenidos en presencia de AR sugieren que el Fe(III) al formar parte del complejo Fe(III)-AR tiene muy baja actividad catalítica.

La inspección preliminar de los espectros UV-Vis de los colorantes azoicos (AB y OG), muestra dos bandas características de absorción. Los máximos en la región UV se encuentran a 320 – 330 nm, mientras que en la región visible se observan máximos a 620 y 480 nm para el AB y el OG, respectivamente. Las bandas UV son características de estructuras aromáticas de dos anillos adyacentes, mientras que las bandas visibles corresponden a los sistemas de electrones π conjugados mediante los grupos azoicos^[15]. La diferencia de 140 nm observada entre los máximos de absorción en la región visible de los azo-colorantes estudiados se debe a que el AB posee una conjugación de electrones π más extendida debido a que posee un grupo azoico más que el OG.^[16] Por otro lado, el espectro UV-visible de la Alizarina Roja S presenta una banda de absorción en la región UV a 260 nm, característica de una estructura antraquinónica.

Del análisis del decaimiento de la absorbancia de los máximos mencionados en el párrafo anterior, se observó claramente que, a medida que avanza el tratamiento de los contaminantes en estudio, tanto para el AB como para el OG la intensidad de la banda de absorción en la región visible disminuye después de unos minutos, mientras que las bandas UV presentan decaimientos a mucha menor velocidad que los correspondientes a las bandas visibles (Figuras 4.3a y 4.3b). Esto sugiere que si bien el radical $\text{HO}\cdot$ ataca casi indiscriminadamente cualquier posición de las moléculas estudiadas, la reacción con los grupos azo, rompe el enlace $-\text{N}=\text{N}-$ y reduce sustancialmente la extensión del sistema π conjugado. En consecuencia, su efecto en la decoloración es más marcado que cuando el ataque se produce sobre otros grupos cromóforos. Por lo tanto, en el contexto de esta tesis se considerará que el grupo azoico es más “lábil” desde el punto de vista espectroscópico que los anillos aromáticos.

Al realizar para la AR un estudio similar al planteado en los otros dos colorantes, se corrobora que la velocidad de decaimiento de absorbancia era mucho menor que la observada para cualquiera de los contaminantes azoicos estudiados. Si bien como se explicó previamente la razón principal de este comportamiento está relacionado con el secuestro del catalizador por parte del sustrato, también es necesario tener en cuenta que para este contaminante el ataque de los radicales $\cdot\text{OH}$ puede producirse únicamente

sobre el sistema de anillos aromáticos que como se ha discutido anteriormente tiene una mayor resistencia a la “decoloración” o “blanqueo” que los cromóforos que involucraran la estructura $-N=N-$.

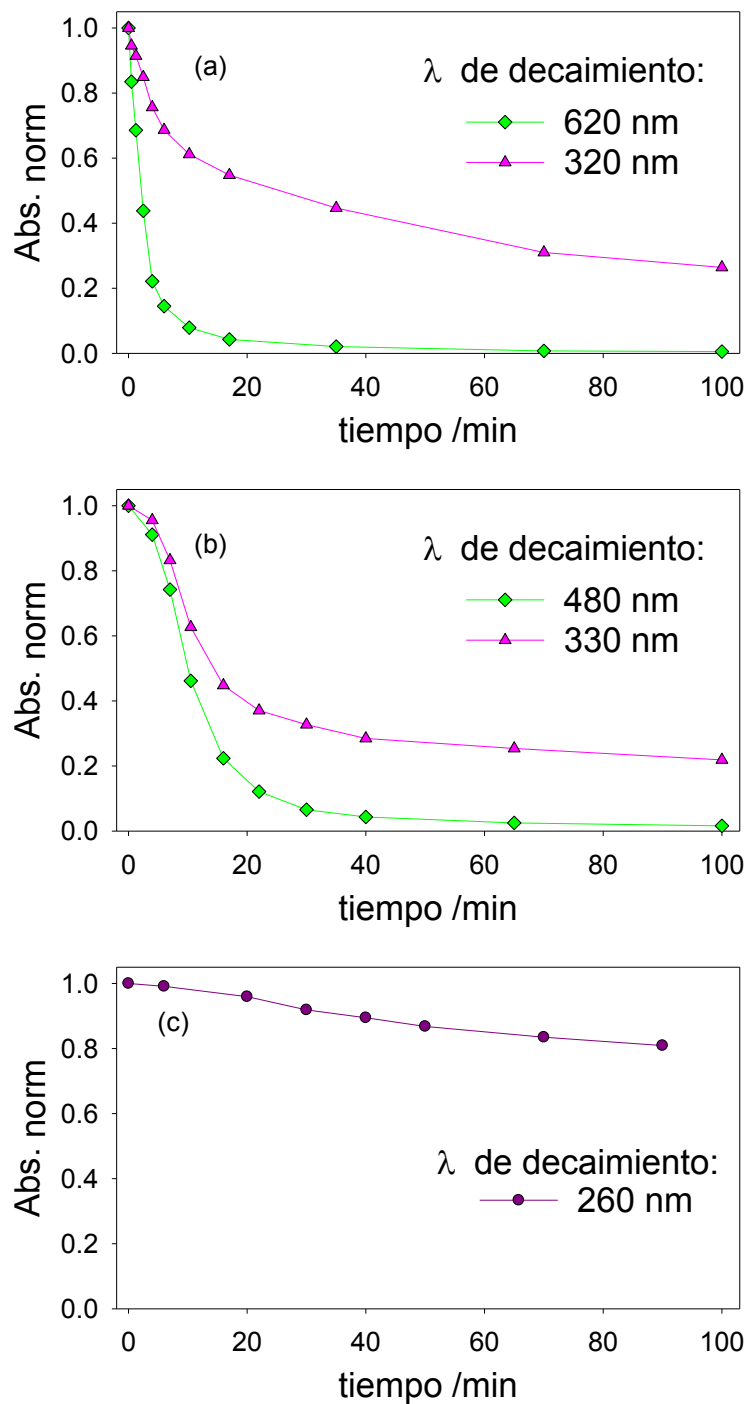


Figura 4.3: Decaimiento de las bandas características de los colorantes estudiados en las mismas condiciones ($[MO]=0.162$ mM, $[H_2O_2]=5$ mM, $[Fe(III)]=0.05$ mM) para (a) AB, (b) OG, (c) AR

4.3.2 Estudios cinéticos

4.3.2.1 Espectroscopia de absorción UV-Visible

El análisis cinético de los perfiles de decoloración obtenidos, para cada uno de los contaminantes estudiados, presenta grandes dificultades. Luego de probar diferentes modelos cinéticos se encontró que, en general, los perfiles de área normalizada en función del tiempo para los distintos colorantes en las diferentes condiciones experimentales, no pueden ajustarse por una única ecuación matemática (Figura 4.4a). Las dificultades en el tratamiento cinético de las trazas obtenidas se deben principalmente a dos motivos: i) la complejidad cinética de los mecanismos que involucran reacciones en cadena y ii) el hecho de que el parámetro en estudio sea la decoloración.

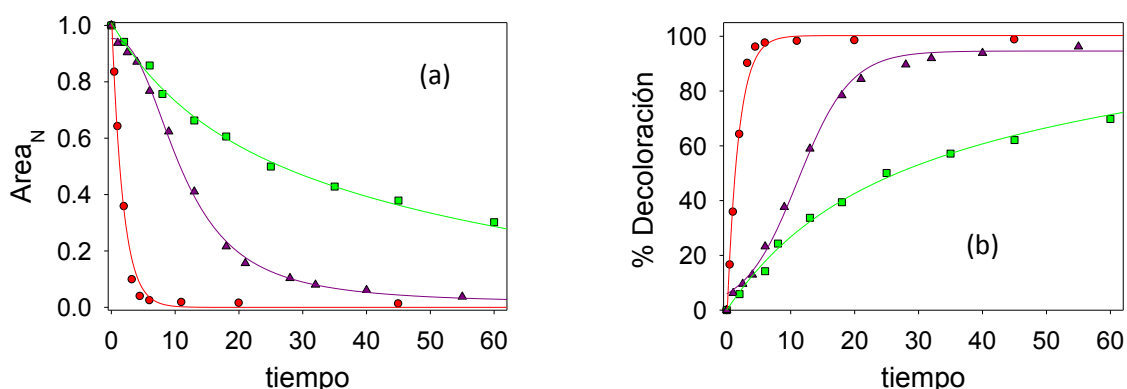


Figura 4.4: (a) Perfiles cinéticos de área normalizada para el OG en distintas condiciones experimentales \blacksquare decaimiento monoexponencial, \blacktriangle autocatálisis, \bullet decaimiento biexponencial. (b) Perfiles de decoloración del OG.

En este contexto, en el presente capítulo solo se analizarán los perfiles de decoloración en función del tiempo (figura 4.4b) de los sistemas estudiados, tomando como objetivo la minimización de los tiempos de tratamiento. A fin de poder realizar comparaciones entre los distintos contaminantes se evaluaron los tiempos para el 20%, 50% y 80% de decoloración (t_{20} , t_{50} , y t_{80}).

En la tabla 4.1 se presentan los tiempos necesarios para obtener el 50 y 80% de decoloración para los colorantes AB y OG.

[MO] /mM	[Fe(III)] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	AB		OG	
			t ₅₀ /min	t ₈₀ /min	t ₅₀ /min	t ₈₀ /min
0.162	0.05	5	6.4	20.0	10.5	19.5
0.324	0.05	5	7.7	49.2	13.1	38.3
0.486	0.05	5	27.4	127.0	14.6	54.8
0.648	0.05	5	234.1	> 280	33.9	119.1
0.162	0.05	5	6.4	20.0	10.5	19.5
0.162	0.1	5	2.4	5.8	5.9	11.9
0.162	0.2	5	1.2	2.9	5.1	9.1
0.162	0.3	5	1.0	2.3	2.5	4.6
0.162	0.05	1	14.0	129.7	17.8	37.5
0.162	0.05	5	6.4	20.0	10.5	19.5
0.162	0.05	15	3.1	8.9	9.4	20.2
0.162	0.05	25	4.1	28.4	12.2	24.9
0.162	0.05	50	8.0	41.4	14.5	32.3
0.162	0.05	100	11.0	45.2	18.0	42.1

Tabla 4.1: Tiempos para la decoloración del AB y del OG.

Por otro lado, dado que en las condiciones estudiadas la escala de tiempo necesaria para la decoloración de la AR difieren en gran medida de las correspondientes a los otros contaminantes estudiados, se la analizará por separado. (Tabla 4.2)

[MO] /mM	[Fe(III)] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	AR		
			t ₂₀ /min	t ₅₀ /min	t ₈₀ /min
0.162	0.12	5	28.1	37.5	53.4
0.324	0.12	5	101.9	131.1	> 280
0.486	0.12	5	>280	>280	> 280
0.648	0.12	5	>280	>280	> 280
0.162	0.05	5	>280	>280	>280
0.162	0.08	5	75.8	99.2	183.4
0.162	0.12	5	28.1	37.5	53.4
0.162	0.17	5	5.9	10.3	17.8
0.162	0.25	5	1.9	3.3	5.8
0.162	0.12	1	75.9	142.7	280.0
0.162	0.12	5	28.1	37.5	53.4
0.162	0.12	15	12.9	19.3	27.2
0.162	0.12	50	12.0	18.6	29.0
0.162	0.12	100	15.8	25.2	42.2

Tabla 4.2. Tiempos de decoloración del AR.

El análisis de los valores presentados en la tabla 4.1 revela que, para los porcentajes de decoloración analizados, los tiempos de tratamiento disminuyen al aumentar las concentraciones de catalizador pero se incrementan al aumentar la concentración de materia orgánica. Además, en la mayoría de los experimentos realizados se observa que, el tiempo requerido para el mismo grado de decoloración y en las mismas condiciones, es menor para el AB que para el OG, en concordancia con lo planteado anteriormente acerca de la ruptura del grupo azoico y la velocidad de decoloración.

El análisis de los tiempos requeridos para alcanzar el 20 % de decoloración permite comparar cualitativamente el comportamiento de las velocidades iniciales de reacción en diferentes condiciones. Puede observarse que la velocidad inicial de decoloración del AB es mayor que para el OG, salvo cuando la concentración del contaminante es la más alta estudiada. Este comportamiento observado solo para concentraciones de colorantes más altas, puede deberse a que los productos de oxidación del AB también pueden contribuir a la absorbancia en la región visible del espectro. Como se ha dicho anteriormente, el grupo azo es más “lábil” que las estructuras aromáticas y, debido a que el AB posee dos grupos $-N=N-$ al romperse uno de ellos, la estructura azoica residual presenta una contribución importante al área normalizada ya que la integración se realiza sobre la totalidad de la región visible.

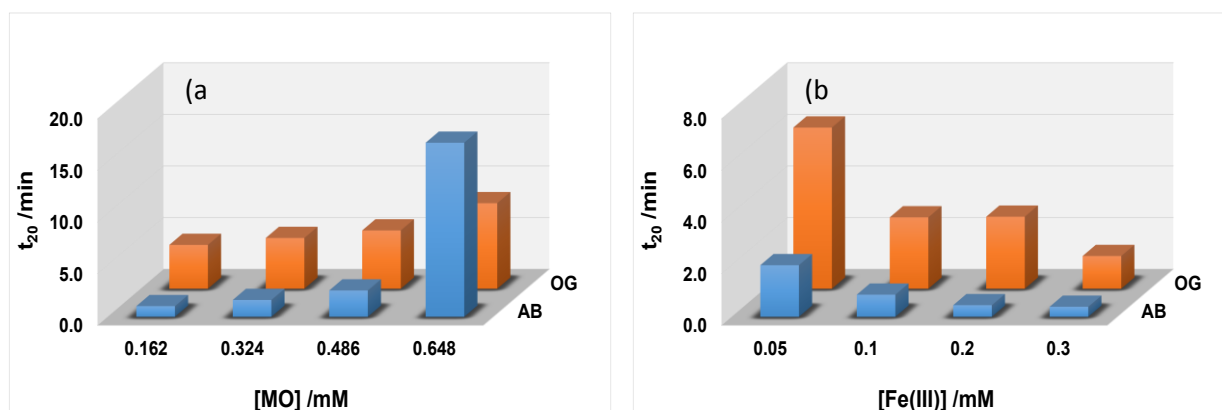


Figura 4.5: Comparación del tiempo para una decoloración del 20% para el AB y el OG a distintas concentraciones iniciales de (a) materia orgánica (MO) y (b) catalizador.

La dependencia del tiempo de decoloración con la concentración inicial de oxidante muestra un comportamiento más complejo. El análisis de la figura 4.6 revela la presencia de un mínimo para $[H_2O_2]_0$ cercana a 15mM para ambos contaminantes. En concordancia con lo observado en otros trabajos^[16,17], para concentraciones menores de peróxido de hidrógeno las concentraciones de peroxicomplejos disminuyen (*R4.1* y *R4.2*) y las velocidades del proceso global representado por *R1.2* decrecen. Por otro lado, el aumento del tiempo de decoloración para concentraciones iniciales de oxidante mayores a ese valor óptimo se debe al incremento de la captación de radicales $\bullet OH$. Como se muestra en la ecuación 1.5 (presentada en el capítulo 1) los radicales hidroxilos reaccionan con el H_2O_2 , produciendo radicales hidroperoxido ($HO_2\bullet$) que por ser menos reactivos que los radicales $\bullet OH$, no contribuyen significativamente a la oxidación de los colorantes.

Por otro lado, si bien las relaciones estequiométricas para la mineralización de los contaminantes azoicos ($[H_2O_2]_0/[azo-colorante]_0$) vales 64 y 42 para el AB y el OG

respectivamente, el cociente entre la concentración inicial del oxidante y del sustrato necesario para minimizar el tiempo de tratamiento, es un valor cercano a 92. La necesidad de emplear concentraciones iniciales de H_2O_2 por encima de las previstas por la estequiometría para optimizar los tiempos de tratamiento está relacionada con: i) la existencia de reacciones que no contribuyen a la decoloración, ii) como se verá más adelante en todas las experiencias realizadas se obtuvo entre un 20% y un 40% de concentración de oxidante residual al final de la decoloración.

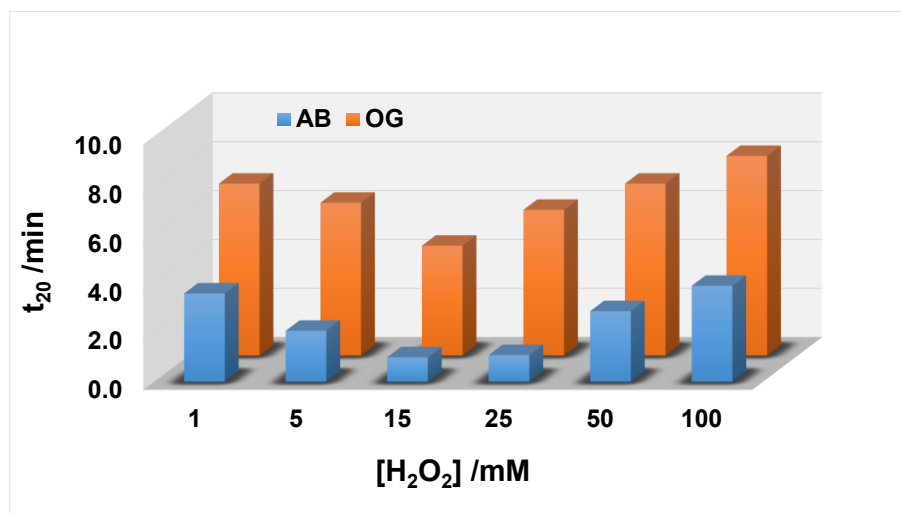


Figura 4.6: Comparación del tiempo para una decoloración del 20% para el AB y el OG a distintas concentraciones iniciales de oxidante.

En el caso de la AR, al igual que para los colorantes azoicos, el análisis de la evolución del sistema en diferentes condiciones muestra que el tiempo de decoloración se reduce al incrementar la concentración de catalizador y aumenta marcadamente con la carga de sustrato (tabla 4.2). Asimismo, el tiempo de decoloración presenta un valor óptimo para concentraciones de H_2O_2 cercanas a 15 mM. (Figuras 4.7b)

Si bien AR tiene un comportamiento similar al observado para el resto de los contaminantes estudiados, como se ha explicado anteriormente, su estructura antraquinónica es mucho menos “lábil” desde un punto de vista espectroscópico que el grupo azoico y además posee la capacidad de complejar al catalizador, por lo que requiere mayor tiempo para obtener el mismo porcentaje de decoloración aun para concentraciones de catalizador relativamente altas.

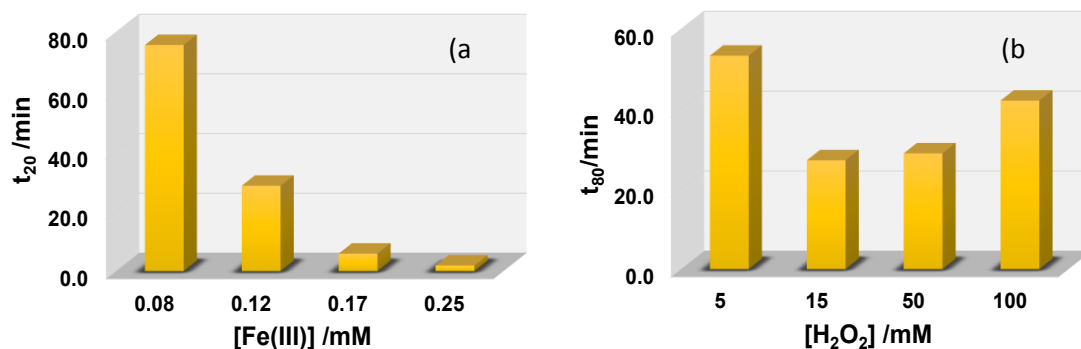


Figura 4.7: Tiempo para una decoloración del 20% y 80% del AR en distintas concentraciones iniciales de (a) catalizador y (b) oxidante.

4.4.3.2 Carbono orgánico total

Para estudiar el grado de la mineralización alcanzado por los distintos colorantes, se realizaron medidas de carbono orgánico total (TOC) sobre las muestras. El grado de mineralización fue calculado con la ecuación 4, donde $\text{TOC}(t)$ y $\text{TOC}(0)$ corresponden a las medidas obtenidas a tiempos t y 0 respectivamente.

$$\text{Mineralización} = \left(1 - \frac{\text{TOC}(t)}{\text{TOC}(0)} \right) \times 100\% \quad \text{Ec. 4.4}$$

En la figura 4.8 se compara la mineralización para los distintos colorantes en las condiciones experimentales correspondientes al centro del dominio experimental estudiado en cada caso.

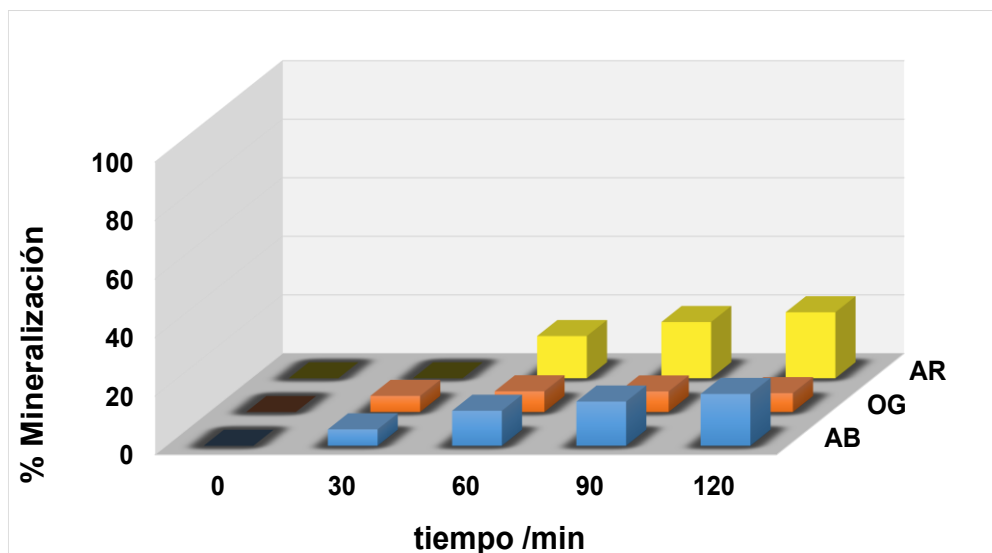


Figura 4.8. Mineralización de los colorantes estudiados.

Los resultados muestran que durante los primeros 30 minutos de reacción, la concentración de carbono orgánico se mantiene prácticamente constante. Luego se observa un incremento en la velocidad de disminución del TOC, hasta alcanzar valores de mineralización aproximadamente del 25 % luego de 120 minutos de reacción. No se han observado mayores grados de mineralización ni aun después de 8 horas de iniciada la cinética. En numerosos trabajos atribuyen este escaso grado de mineralización a la formación de productos de reacción tales como el oxalato que forman complejos con el Fe(III) y bloquean su actividad catalítica impidiendo la transformación de la materia orgánica a CO_2 .^[18,19]

4.4.3.3 Consumo de H_2O_2

El consumo de oxidante depende fuertemente del contaminante estudiado, pero para cualquiera de ellos se observó una concentración residual de H_2O_2 al final del tratamiento superior al 20% de la concentración inicial. En la figura 4.9 se muestran los valores de concentración normalizada de H_2O_2 obtenidos en los experimentos de oxidación de los distintos colorantes.

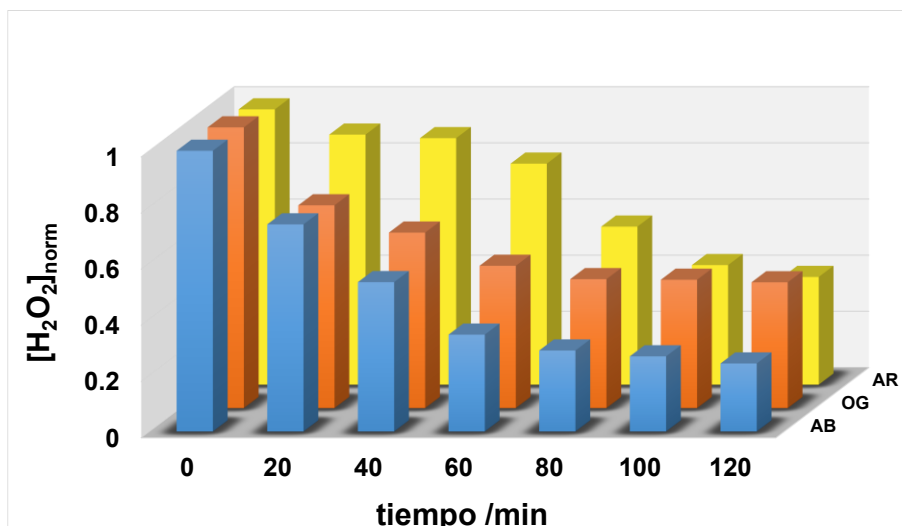


Figura 4.9: Concentración normalizada de H₂O₂ para los distintos colorantes.

El análisis comparativo de los perfiles de decoloración, los grados de mineralización y los porcentajes de oxidante residual muestra que, luego de 120 minutos de tratamiento en condiciones operativas similares, las decoloraciones son superiores al 90%, pero los grados de mineralización no superan el 20% a pesar de que en todos los sistemas se encontró entre un 20 y un 40% de peróxido de hidrogeno residual.

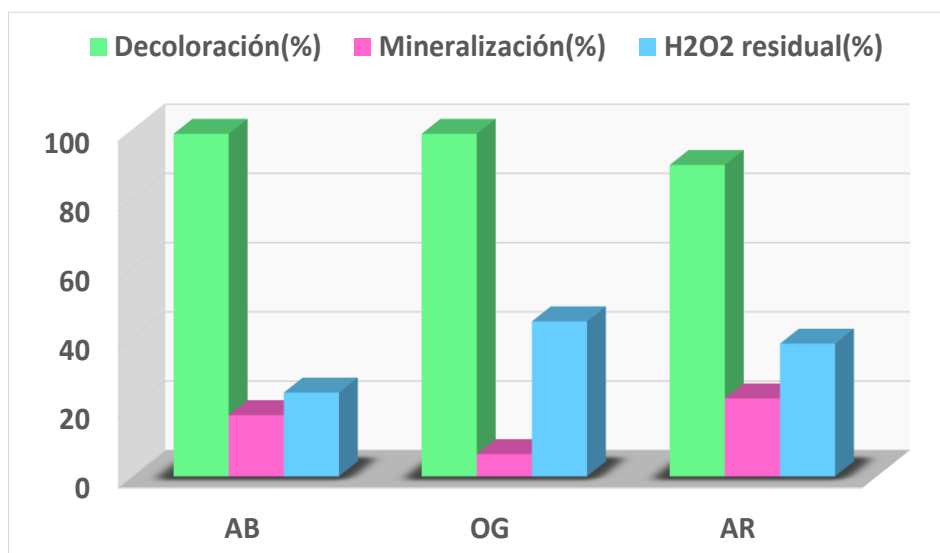


Figura 4.10: Comparación de la decoloración, mineralización y oxidante residual de los colorantes estudiados.

4.4.3.4 Espectroscopía de fluorescencia

En este trabajo de tesis se midieron las matrices de emisión–excitación (EEM), junto con los espectros de absorción, para las cinéticas cuyas concentraciones y condiciones operativas fueron usadas como punto central del dominio experimental dentro del cual se mapearon las cinéticas de decoloración de cada contaminante.

Si bien, el campo de exploración se ajustó a longitudes de onda desde 250 hasta 600 nm para la excitación y desde 300 hasta 750 nm para la emisión, la región significativa de estudio se determinó en la zona definida por una excitación entre los 250 y 500 nm y una emisión comprendida entre los 300 nm y los 575 nm. En todos los casos, se emplearon intervalos de muestreo de 5 y 2 nm, en los modos de excitación (Ex) y emisión (Em), respectivamente

Cabe aclarar que, como se ha observado en la literatura, en sistemas tan complejos la señal de fluorescencia es, a menudo, la suma de los perfiles los espectrales superpuestos de múltiples productos de degradación.^[20]

EEM correspondientes a la decoloración del AB

Como puede observarse en la figura 4.11, la EEM inicial se caracteriza por la presencia de una banda de emisión con un máximo en 350 nm cuando la molécula es excitada con longitudes de onda cercanas 290 nm (región luminiscente A $\lambda_{exc}/\lambda_{em}$, 290/350 nm). Considerando las longitudes de onda de excitación involucradas, esta emisión podría, en principio, atribuirse a la estructura fenilazo presente en el AB. Luego de 20 minutos de iniciada la reacción comienza a aumentar la emisión centrada en 476 nm cuando se excita al sistema con una longitud de onda de 330 nm (banda B). El perfil de intensidad de emisión en esta región de la EEM pasa por un máximo a los 80 minutos de tratamiento. Esta fluorescencia, dadas sus características espectrofluorimétricas, debería estar asociada a estructuras aromáticas residuales que no pueden evidenciarse a partir del análisis de los espectros de absorción UV–Vis para estos tiempos de tratamiento. Luego la intensidad de la banda B comienza a disminuir lentamente como se puede ver en la figura 4.12. Estos resultados sugieren que la fluorescencia como técnica de seguimiento de la degradación de este tipo de contaminantes es mucho más sensible y aporta mayor información que las medidas espectrofotométricas.

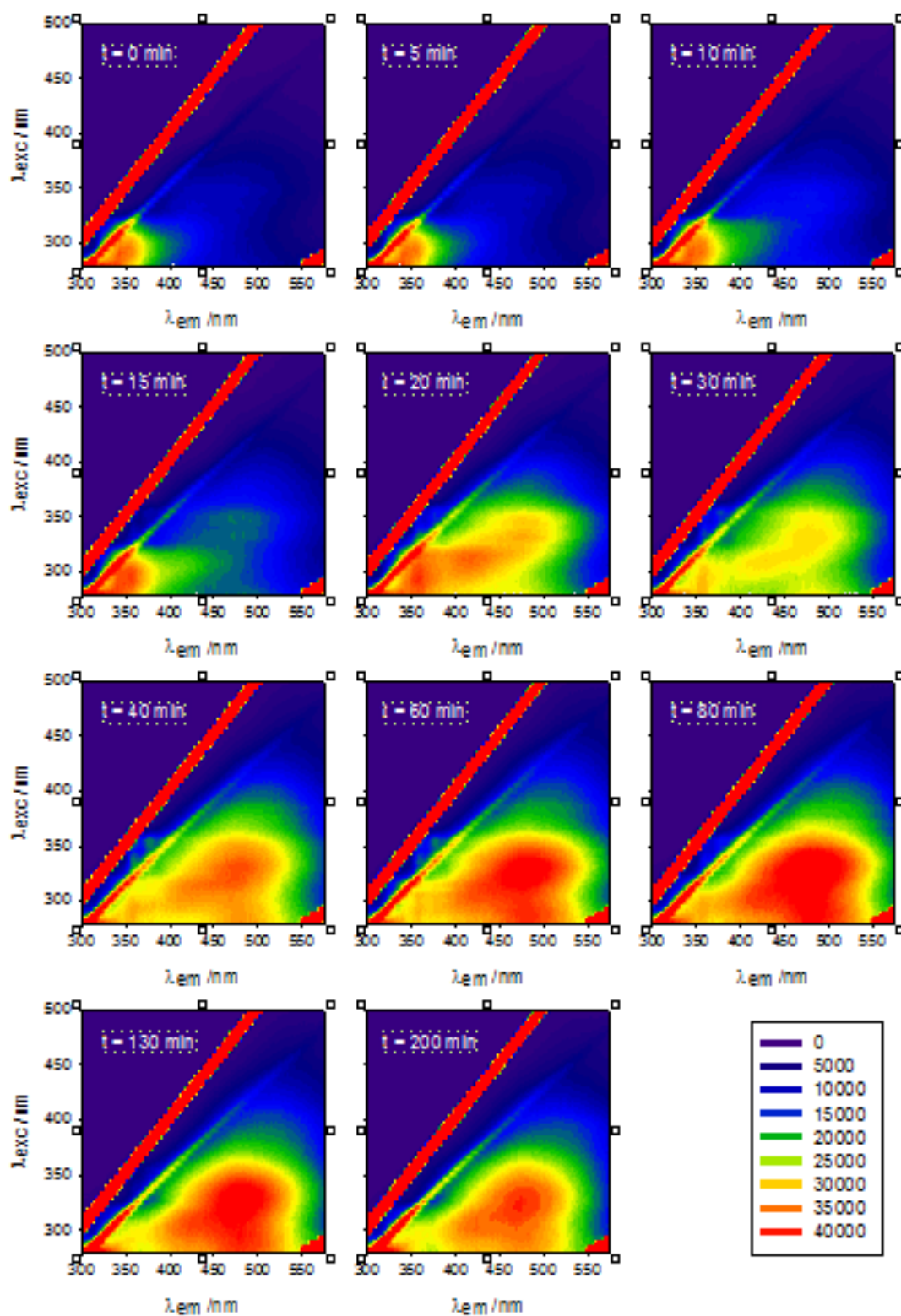


Figura 4.11: EEM para la cinética de decoloración del AB. $[AB]_0 = 0.162\text{mM}$, $[\text{Fe(III)}] = 0.05\text{mM}$ $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 5\text{mM}$.

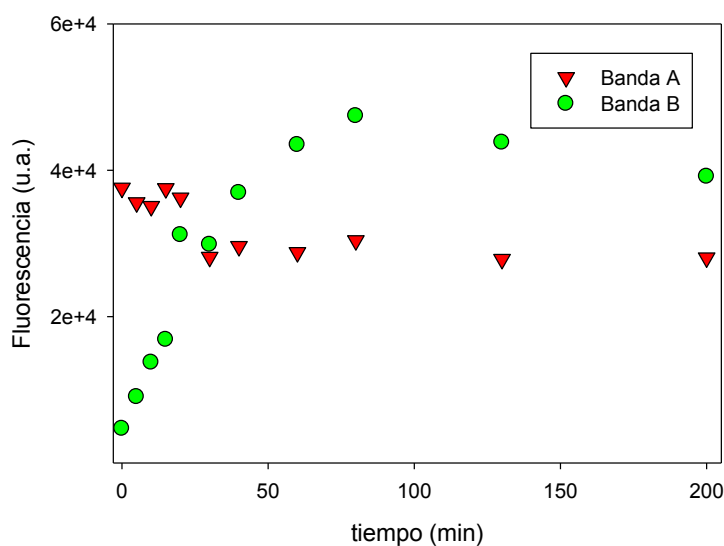


Figura 4.12: Evolución de la intensidad de los máximos de fluorescencia en cinética de decoloración del AB. $[AB]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$ $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

EEM correspondientes a la decoloración del OG

En la figura 4.13 se muestran las EEM correspondientes a la cinética de decoloración del OG. Al igual que para el caso del AB, cuando la molécula es excitada con longitudes de onda cercanas a 290 nm se observa un máximo de emisión a los 350 nm. Esta similitud en el comportamiento espectrofluorimétrico se relaciona con la presencia de la estructura fenilazo en ambos colorantes. Sin embargo, la intensidad de la emisión en el OG es 3 veces mayor que la observada con AB. Esta diferencia podría atribuirse al grupo nitrofenilazo en el AB ya que, como se dijo anteriormente (capítulo 1) tanto el grupo azo como el grupo nitro generalmente provocan una disminución de la intensidad de fluorescencia. Esta emisión durante los primeros 60 minutos de tratamiento disminuye gradualmente. Por otra parte, comienza a aumentar, en forma simultánea, una nueva banda de emisión cercana a los 522 nm cuando se excita el sistema con longitudes de onda entre 310 nm y 340 nm (bandas B y C, respectivamente). El análisis de los perfiles de emisión correspondientes a las regiones B y C muestra, en ambos casos, valores máximos para tiempos de tratamiento de 20 y 30 minutos, respectivamente. Luego la intensidad de ambas bandas comienza a disminuir considerablemente como se puede ver en la figura 4.14. Dado que ambas regiones (B y C) presentan sus longitudes de emisión máximas en 522 nm, las emisiones

corresponden al mismo estado emisor, que es poblado a partir de dos estados excitados diferentes y por tanto corresponde a una misma estructura fluorescente. Este fenómeno conocido como multiexcitación será discutido en detalle al analizar las EEM correspondientes a AR.

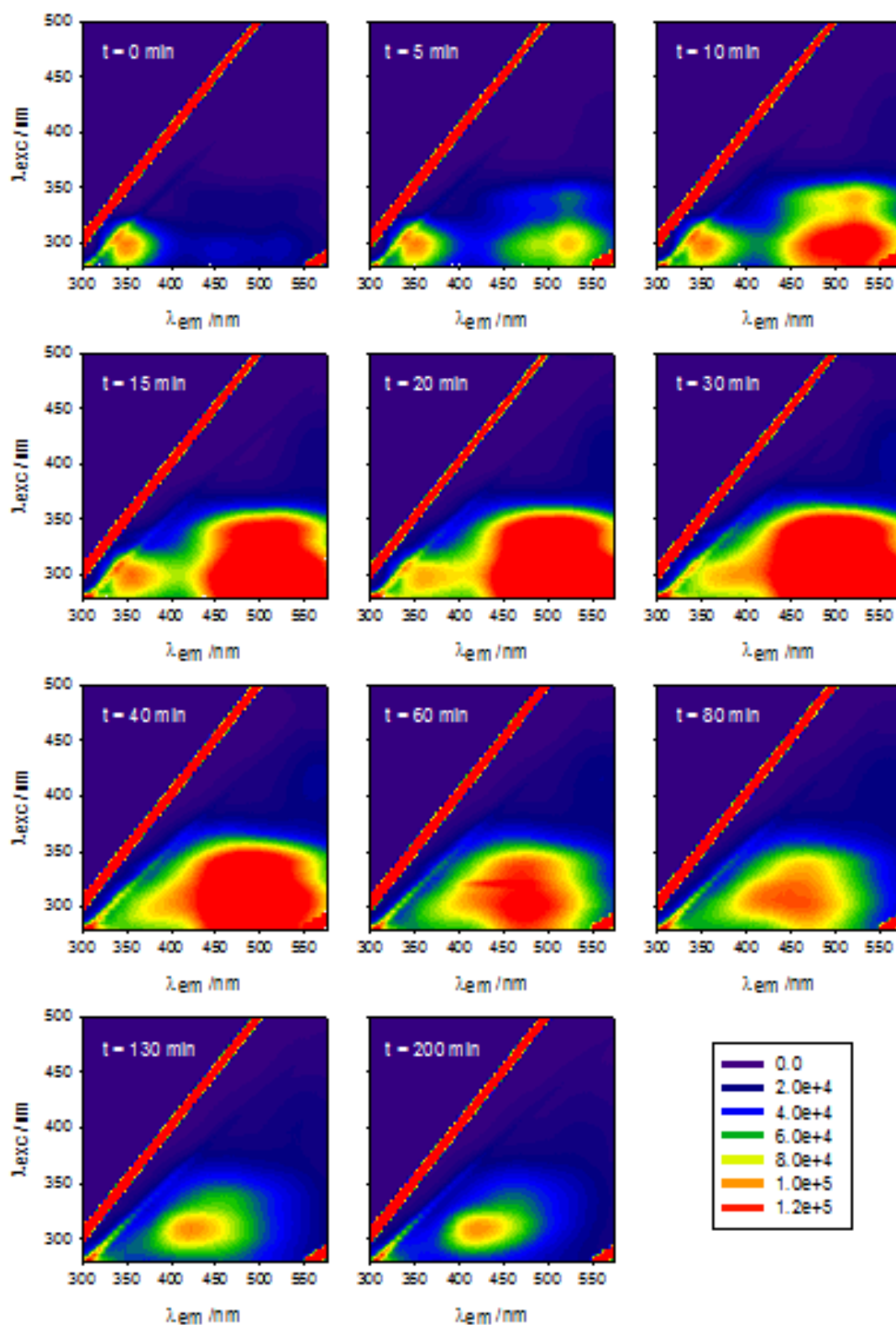


Figura 4.13: EEM para la cinética de decoloración del OG. $[\text{OG}]_0 = 0.162\text{mM}$, $[\text{Fe(III)}] = 0.05\text{mM}$ $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 5\text{mM}$.

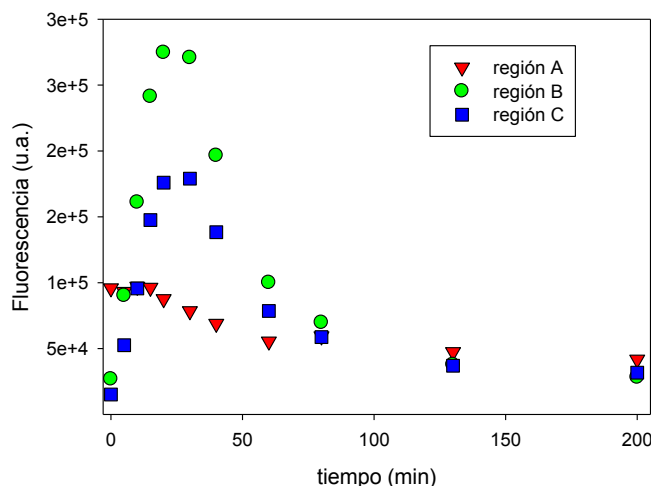


Figura 4.14: Evolución de las bandas de fluorescencia en cinética de decoloración del OG.
 $[OG]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

La comparación de los EEM correspondientes a los tratamientos de AB y OG revela que en las etapas iniciales ambos sistemas exhiben incrementos de la emisión en regiones similares con máximos de emisión cercanos a 500 nm y máximos de excitación alrededor de los 320 nm. Estos resultados sugieren que para ambos colorantes el incremento de luminiscencia registrado en estas regiones podría estar asociado a especies generadas a partir del ataque a la estructura del tipo 2-hidroxinaftilazo sustituida.

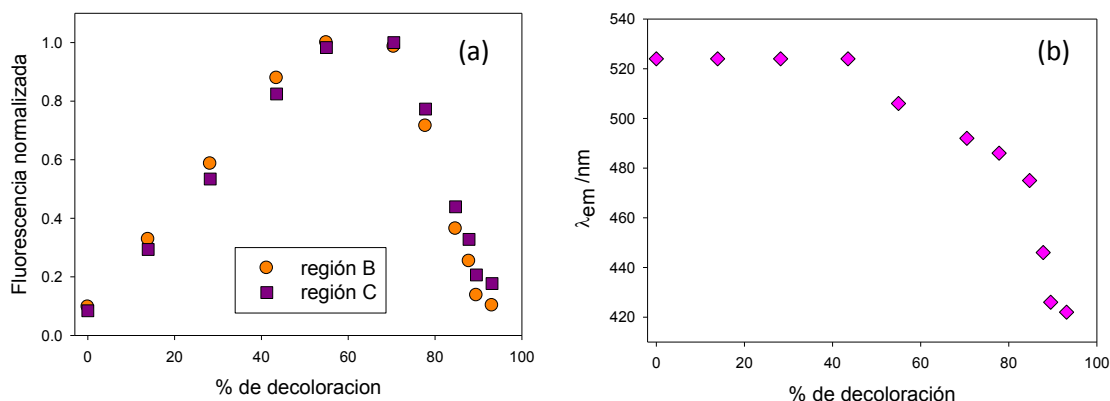


Figura 4.15: (a) evolución de la emisión normalizada correspondientes a las bandas B y C del OG
 (b) corrimiento del máximo de emisión en función del grado de avance de la reacción.

Además, a diferencia de lo observado en las EEM correspondiente a AB, en el caso de OG, a partir del 50% de decoloración aproximadamente, para una excitación cercana a 305 nm, comienza a observarse un corrimiento de la emisión hacia longitudes de onda más cortas a medida que avanza el tratamiento, llegando a ser de más de 100 nm cuando la decoloración es completa (Figura 4.15b). En la literatura, se ha planteado que un desplazamiento hacia el azul está asociado con una descomposición de los restos aromáticos condensados y la disgregación de las moléculas grandes en fragmentos más pequeños. Estas estructuras probablemente presentan una reducción en el grado de conjugación del sistema de electrones π , debido a que al avanzar la oxidación se produce una disminución en el número de anillos aromáticos.^[22]

Por otra parte, al evaluar la intensidad normalizada de la emisión de la región B de ambos sistemas, figura 4.16, se observa que para el OG se obtiene la máxima emisión cerca del 60% de decoloración mientras que para observar la misma emisión en el caso del AB es necesario un grado de decoloración del 90%.

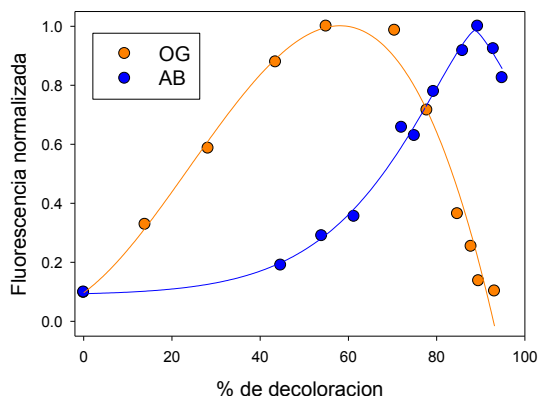


Figura 4.16: Comparación de la evolución del máximo de emisión de la región B en función del grado de decoloración para AB y OG.

EEM correspondientes a la decoloración del AR

Como es de esperar tanto la EEM de AR como la del complejo AR-Fe(III) presentan las mismos cuatro regiones de fluorescencia en Ex295/Em350,

Ex285/Em518, Ex360/Em518 y Ex415/Em518 nm, que serán designadas con las letras A, B, C y D, respectivamente (Figura 4.17). En todos los casos la intensidad registrada es menor cuando en el sistema está presente el metal. Las regiones B, C y D se encuentran a la misma longitud de onda de emisión y son el resultado de la multiexcitación de un mismo fluoróforo.^[23,24] El fenómeno de las bandas de multiexcitación puede ser explicado considerando la población de distintos estados excitados que finalmente alcanzan el mismo estado emisor. La emisión ocurre, predominantemente, desde el primer estado excitado singlete (S1) debido a la rápida relajación de los estados excitados superiores hacia el estado fundamental vibracional del nivel S1.^[25]

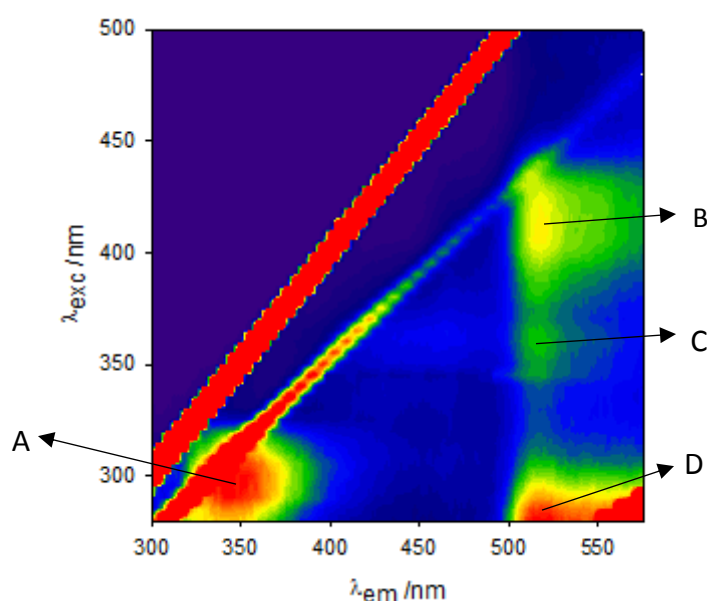


Figura 4.17: EEM del sistema formado por AR libre y del complejo AR-Fe(III) a pH=3

Siguiendo la cinética de decoloración por la técnica de espectroscopia de fluorescencia (figura 4.18) se observó que, durante los primeros 30 minutos de reacción, las intensidades de los máximos de AR fueron decayendo aproximadamente a la misma velocidad (figura 4.19a). La región C no está graficada en la figura 4.19a ya que se mezcla con el ruido del equipo debido a su escasa intensidad.

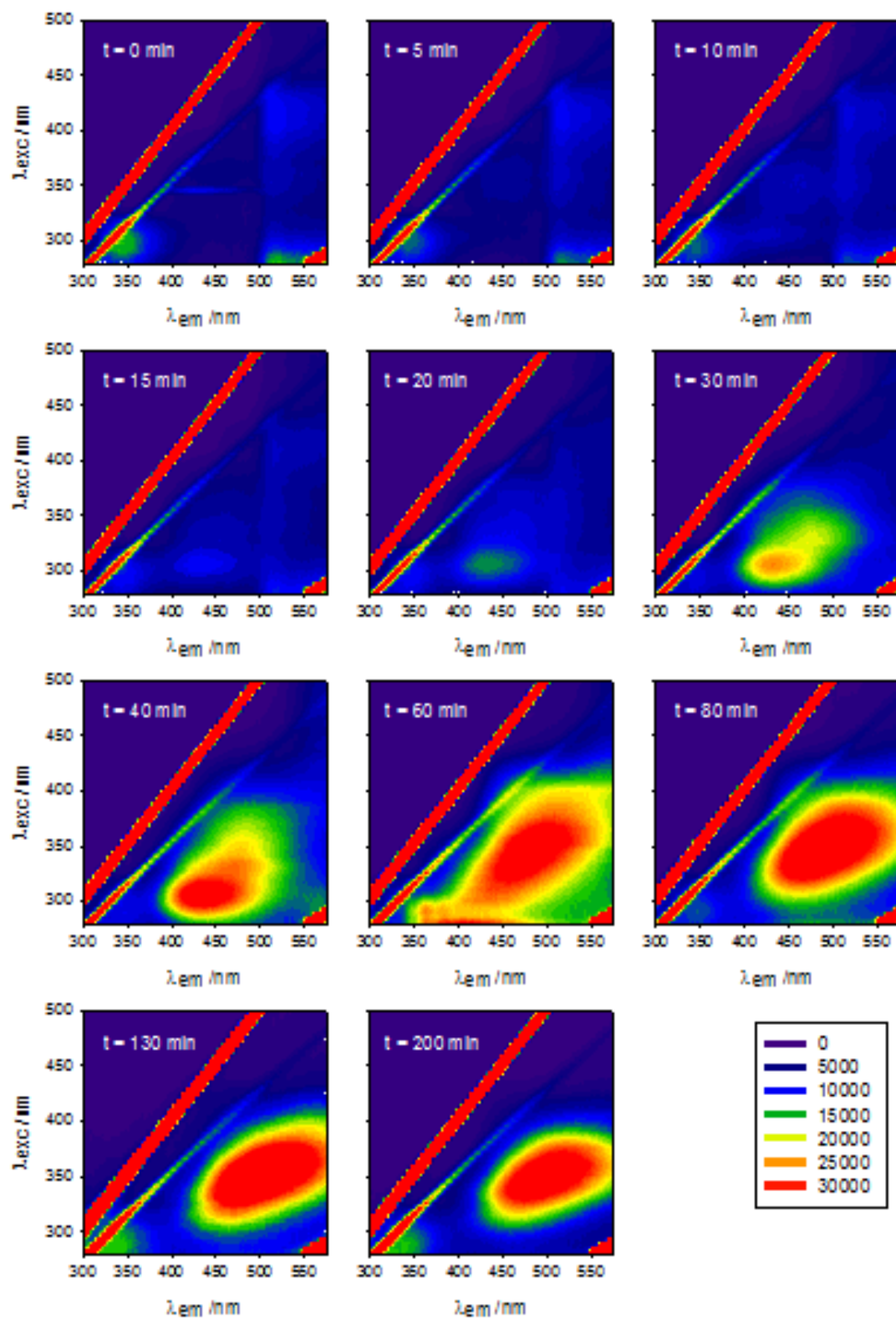


Figura 4.18: EEM para la cinética de decoloración del AR. $[AR]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.12\text{mM}$
 $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

Al mismo tiempo que se produce la desaparición de la fluorescencia característica del sistema formado por la mezcla del complejo AR-Fe(III) con AR libre, comienza visualizarse un aumento en la emisión cercana a los 450 nm cuando el sistema es excitado a 305 nm (región E). Entre los 40 y 60 minutos hay un corrimiento de la región de emisión hacia longitudes de onda de excitación y de emisión más altas, registrándose un máximo de emisión en 500 nm a los 130 minutos para una excitación de 350 nm (región F). Este corrimiento podría estar asociado a la adición de auxóchromos por la hidroxilación de la estructura antraquinónica. Figura 14.19b.

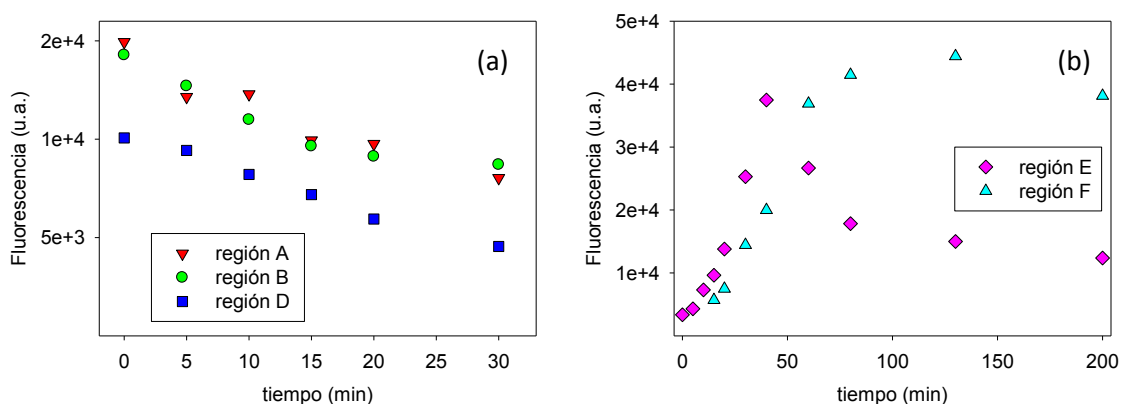


Figura 4.19: Evolución de los picos de fluorescencia en cinética de decoloración de la AR. $[AR]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.12\text{mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

4.4 Conclusiones

El análisis cualitativo de la decoloración de los colorantes azoicos muestra que, en condiciones equivalentes, el tiempo requerido para alcanzar porcentajes de decoloración cercanos al 50% es más del doble para el OG que para el AB.

El colorante antraquinónico AR requiere tiempos de tratamiento significativamente mayores que los necesarios para decolorar a los contaminantes azoicos. Este resultado puede explicarse considerando la inactivación del catalizador como consecuencia de la formación del complejo Fe(III)-AR.

Las velocidades medias de decoloración de los contaminantes estudiados aumentan con la concentración de catalizador, disminuyen con el incremento de la

carga orgánica y presentan un valor óptimo para concentraciones de H_2O_2 cercanas a 15 mM.

Si bien los sistemas tipo-Fenton basados en el empleo de Fe(III) pueden alcanzar elevados porcentajes de decoloración en escalas de tiempo relativamente cortas, los grados de mineralización alcanzados resultan muy poco satisfactorios aun en presencia de altas concentraciones residuales de oxidante.

El análisis de las EEM correspondientes a los colorantes azoicos estudiados muestra un incremento de la intensidad de fluorescencia en la región visible durante las etapas iniciales e intermedias de la decoloración. Posteriormente, las EEM obtenidas a partir del tratamiento de sistemas con OG, muestran un corrimiento de la emisión hacia longitudes de onda más cortas, sugiriendo la degradación de las estructuras aromáticas.

El análisis de las matrices obtenidas en presencia de AR muestra que, durante los primeros minutos de reacción, la intensidad de emisión correspondiente al colorante de partida decae en la misma escala de tiempo en la que aparece una nueva emisión en la región visible. Posteriormente, la emisión en la región visible muestra un corrimiento hacia el rojo (tanto en las longitudes de onda de emisión como las de excitación). Este corrimiento batocrómico podría estar asociado a reacciones de hidroxilación de la estructura antraquinónica.

Para todos los colorantes estudiados el análisis de las intensidades de fluorescencia registradas luego de 200 minutos de tratamiento revela la presencia de estructuras aromáticas residuales, que pueden contribuir a la toxicidad de las soluciones aun después de haber completado el proceso de decoloración.

4.5 Bibliografía

1. Barb, W., Baxendale, J., George, P. & Hargrave, K. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 462–500 (1951).
2. Barb WG., George, P. & Hargrave, K. R. H. Reaction of ferrous and ferric ions with hydrogen peroxide. *Trans. Faraday Soc.* **47**, 591–616 (1950).
3. Graf, E., Mahoney, J. R., Bryant, R. G. & Eaton, J. W. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* **259**, 3620–3624 (1984).
4. De Laat, J. & Gallard, H. Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Fe(III) in Homogeneous Aqueous Solution: Mechanism and Kinetic Modeling. *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2726–2732 (1999).
5. Chen, R. & Pignatello, J. J. Role of Quinone Intermediates as Electron Shuttles in Fenton and Photoassisted Fenton Oxidations of Aromatic Compounds. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 2399–2406 (1997).
6. Du, Y., Zhou, M. & Lei, L. Role of the intermediates in the degradation of phenolic compounds by Fenton-like process. *J. Hazard. Mater.* **136**, 859–65 (2006).
7. Rodriguez, S., Vasquez, L., Romero, A. & Santos, A. Dye Oxidation in Aqueous Phase by Using Zero-Valent Iron as Persulfate Activator: Kinetic Model and Effect of Particle Size. *Ind. Eng. Chem. Res.* **53**, 12288–12294 (2014).
8. Pignatello, J. J. Dark and photoassisted iron(3+)-catalyzed degradation of chlorophenoxy herbicides by hydrogen peroxide. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 944–951 (1992).
9. Ma, J. *et al.* Fenton Degradation of Organic Pollutants in the Presence of Low-Molecular-Weight Organic Acids: Cooperative Effect of Quinone and Visible Light. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 618–624 (2006).
10. SystatSoftware. <https://systatsoftware.com/product/sigmaplot>.
11. Microsoft. <https://products.office.com/es-ar/excel>.
12. Baker, A. & Genty, D. Fluorescence wavelength and intensity variations of cave waters. *J. Hydrol.* **217**, 19–34 (1999).
13. Ni, Y., Liu, G. & Kokot, S. Fluorescence spectrometric study on the interactions of Isoprocarb and sodium 2-isopropylphenate with bovine serum albumin. *Talanta* **76**, 513–521 (2008).
14. Buxton, G. V., Greenstock, C. L., Helman, W. P., Ross, A. B. & Tsang, W. Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ($\cdot\text{OH}$ / $\cdot\text{O}^-$) in Aqueous Solution. *Am. Inst. Phys.* 513 (1987). doi:10.1063/1.555805

15. Silverstein, R. M. C., Basdler, G. C. & Morrill, G. C. *Spectrophotometric identification of organic compounds*. (Wiley, 1991).
16. Lucas, M. S. & Peres, J. A. Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dye. Pigment.* **71**, 236–244 (2006).
17. Nichela, D., Carlos, L. & Einschlag, F. G. Autocatalytic oxidation of nitrobenzene using hydrogen peroxide and Fe(III). *Appl. Catal. B Environ.* **82**, 11–18 (2008).
18. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fenton techniques1. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fen. *Appl. Catal. B Environ.* **170–171**, 312–321 (2015).
19. Wang, N., Zheng, T., Zhang, G. & Wang, P. A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. *J. Environ. Chem. Eng.* **4**, 762–787 (2016).
20. Nahorniak, M. L., Cooper, G. A., Kim, Y. & Booksh, K. S. Three- and four-way parallel factor (PARAFAC) analysis of photochemically induced excitation – emission kinetic fluorescence spectra. *Analyst* **130**, 85–93 (2005).
21. Fujino, T. & Tahara, T. Femtosecond Time-Resolved Fluorescence Study of Photoisomerization of trans -Azobenzene. *J. Phys. Chem.* **2**, 8123–8129 (2001).
22. Lai, B., Zhou, Y., Wang, J., Yang, Z. & Chen, Z. Application of excitation and emission matrix fluorescence (EEM) and UV – vis absorption to monitor the characteristics of Alizarin Red S (ARS) during electro-Fenton degradation process. *Chemosphere* **93**, 2805–2813 (2013).
23. Li, W. *et al.* HPLC / HPSEC-FLD with multi-excitation / emission scan for EEM interpretation and dissolved organic matter analysis. *Water Res.* **47**, 1246–1256 (2012).
24. Li, W., Xu, Z., Wu, Q. & Li, Y. Characterization of fluorescent-dissolved organic matter and identification of specific fluorophores in textile effluents. *Env. Sci Pollut Res* **22(6)**, 4183–4189. (2014).
25. Lakowicz, J. . & Geddes, C. D. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. (Springer Science, 2006).



CAPÍTULO 5

PROCESO TIPO-FENTON
TRATAMIENTO DE SOLUCIONES
CON MEZCLAS DE COLORANTE

5.1 Introducción

En la literatura especializada abundan los trabajos en los que se analiza la decoloración y mineralización de colorantes individuales.^[1-8] Sin embargo, los efluentes de las plantas de tratamiento poseen una composición compleja y variada de contaminantes. Por lo tanto, el estudio del tratamiento de mezclas de colorantes representa una aproximación un poco más cercana a la complejidad de los efluentes reales. El estudio de estas mezclas es un área con menor grado de desarrollo debido en parte a la mayores dificultades relacionadas tanto a los aspectos fisicoquímicos como a los analíticos.^[9,10]

En este capítulo se presentarán las tendencias en la decoloración de las posibles mezclas de los colorantes estudiados, utilizando sistemas tipo-Fenton con Fe(III) como catalizador.

5.2 Materiales y métodos

Los ensayos se realizaron en reactores de 250 mL con agitación continua, en ausencia de irradiación, a pH 3.0 y 25 °C. Los reactivos, técnicas analíticas y procedimientos utilizados fueron los mismos que los descritos en el capítulo 4.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Mezclas binarias

5.3.1.1 Comportamiento espectral

En la Figura 1 se muestran los espectros registrados a diferentes tiempos para las distintas mezclas binarias estudiadas. Las concentraciones molares de sustrato, catalizador y oxidante empleados fueron idénticas a las utilizadas en el punto central

del dominio experimental definido para los tratamientos de colorantes en forma individual.

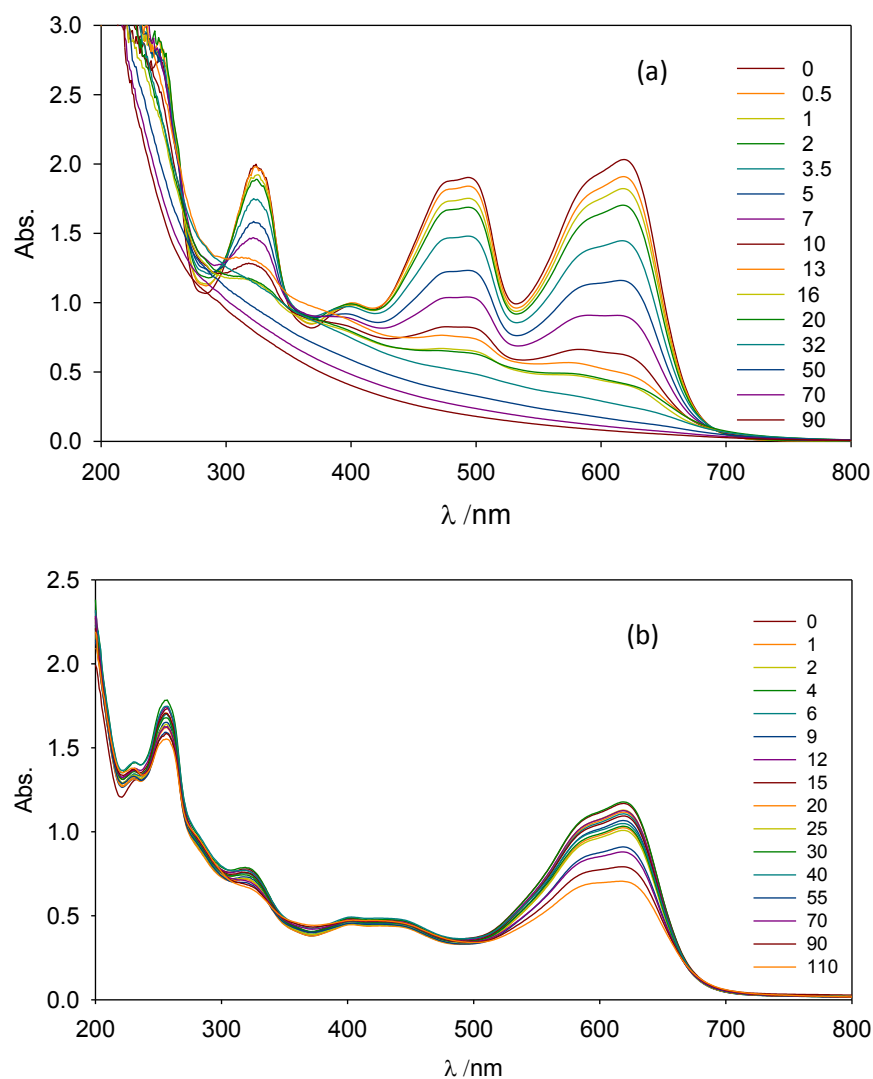


Figura 5.1: Espectros registrados durante el tratamiento de mezclas binarias ([colorantes]=0.162 mM, [H₂O₂]= 5 mM, [Fe (III)]= 0.05 mM) para (a) AB & OG, (b) AB & AR, (c) OG & AR.

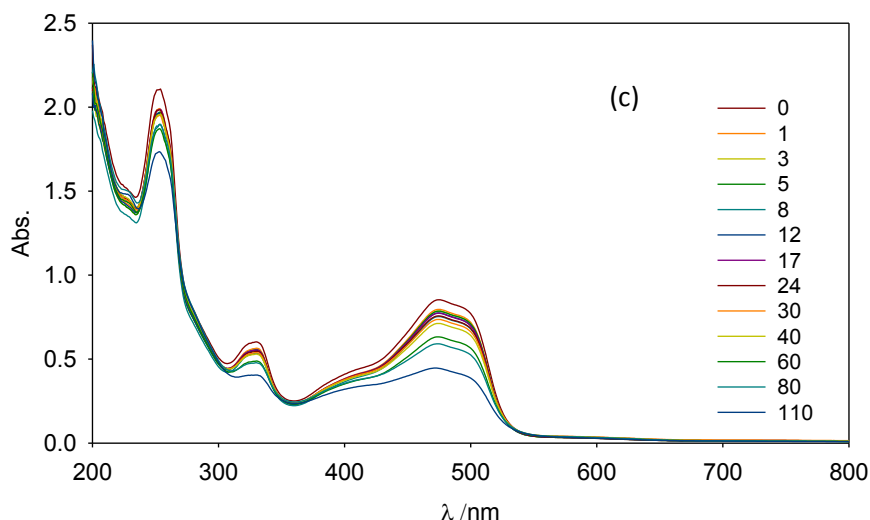


Figura 5.1 (continuación). Espectros registrados durante el tratamiento de mezclas binarias ($[\text{colorantes}] = 0.162 \text{ mM}$, $[\text{H}_2\text{O}_2] = 5 \text{ mM}$, $[\text{Fe (III)}] = 0.05 \text{ mM}$) para (a) AB & OG, (b) AB & AR, (c) OG & AR.

Como puede observarse en la figura 5.1 para cada mezcla existe una compleja evolución de los espectros correspondientes. Considerando el criterio utilizado en el capítulo 4, que relaciona las bandas espectrales con la estructura de los contaminantes en estudio, podría realizarse el siguiente análisis:

⌘ Las mezcla que contiene AB y OG presentan dos bandas de absorción en la región visible cuyos máximos se encuentran cercanos a 480 nm y 620 nm, correspondientes a los máximos de absorción de las bandas visibles de los colorantes individuales. Además se observa una banda en la región UV, con un máximo cercano a los 320 nm cuya intensidad es comparable a la de las bandas del visible debido a la superposición de las bandas UV de los colorantes individuales correspondientes a la estructura aromática de dos anillos adyacentes.

⌘ La mezcla de AB y AR posee una banda en la región visible del espectro que se corresponde con el máximo del AB, relacionado a la conjugación de los electrones π de los grupos azoicos. Además, presenta en la zona UV, una banda con un máximo en 260 nm, debida a la estructura antraquinónica de AR y un hombro en 320

nm, principalmente relacionado con la estructura aromática de tipo naftalénica sustituida del AB.

⌘ La mezcla formada por AR y OG, presenta en la región UV dos bandas, una que se corresponden al máximo de la AR en 260 nm y la otra, a la superposición de la absorción de ambos colorantes en la zona de los 320 nm. Es importante señalar que en esta mezcla esta última banda está mejor definida que para la mezcla AB-AR. Además, en la región visible se observa la banda correspondiente al sistema conjugado de anillos unidos por el grupo $-N=N-$ del OG con un máximo en 480 nm.

Una comparación grosera los perfiles espectrales, a medida que avanzan los tiempos de reacción, nos permite distinguir las mezclas que no contienen el colorante antraquinónico de aquellas que si lo tienen. En la mezcla de AB y OG las dos bandas correspondientes a los grupos azoicos decaen aproximadamente con la misma velocidad, mientras que, tanto para la mezcla AB & AR como para la mezcla OG & AR, el cambio relativo de la absorbancia es menor en la banda que corresponde a AR. En este contexto, y utilizando las ecuaciones 4.1 y 4.2 para el cálculo del área y del área normalizada, respectivamente, se obtuvieron los resultados que se muestran en la figura 5.2 para condiciones iniciales equivalentes (de catalizador, oxidante y carga orgánica total).

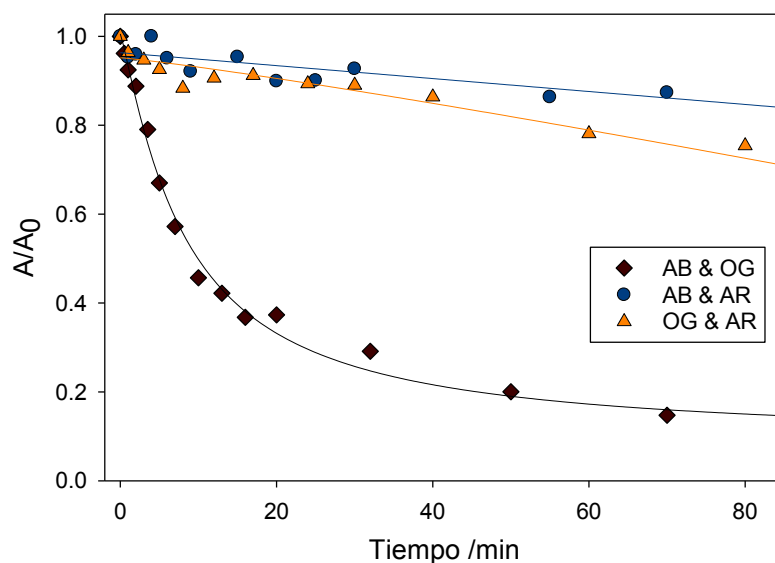


Figura 5.2: Perfiles cinéticos de las mezclas binarias estudiadas.

Puede apreciarse que la escala temporal en la que se verifica un 80% de decoloración difiere considerablemente para las mezclas binarias de los colorantes estudiados. En bibliografía se encontró que la constante de velocidad de la reacción entre el radical hidroxilo y los colorantes en estudio es, en todos los casos, del orden de $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [11]. Por lo tanto, las diferencias en los tiempos de decoloración no pueden atribuirse a diferencias de reactividad de los colorantes frente a los radicales $\text{OH}\cdot$. En consecuencia, el comportamiento observado sugiere que la presencia de colorante antraquinónico inhibe la producción de $\text{OH}\cdot$, como consecuencia de la formación del complejo entre este sustrato y el catalizador.

Conservando la similitud del estudio cinético realizado en el capítulo 4 para cada uno de los colorantes, en el presente capítulo se analizarán los tiempos necesarios para alcanzar grados de decoloración del 20%, 50% y 80% de decoloración (t_{20} , t_{50} , y t_{80}) de las distintas mezclas.

5.3.1.2 Estudio cinético de la mezcla AB & OG

En la tabla 5.1 se presentan los tiempos necesarios para obtener el 50% y 80% de decoloración para la mezcla de los colorantes AB y OG.

[AB] /mM	[OG] /mM	[Fe(III)] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	t ₅₀ /min	t ₈₀ /min
0.162	0.162	0.05	5	10.2	38.3
0.324	0.162	0.05	5	38.0	> 165
0.486	0.162	0.05	5	66.2	> 165
0.648	0.162	0.05	5	> 165	> 165
0.162	0.324	0.05	5	24.6	> 165
0.162	0.486	0.05	5	39.9	> 165
0.162	0.648	0.05	5	> 165	> 165
0.162	0.162	0.05	5	10.2	38.3
0.162	0.162	0.15	5	2.5	6.8
0.162	0.162	0.25	5	1.4	3.3
0.162	0.162	0.4	5	0.9	2.2
0.162	0.162	0.05	1	47.1	> 120
0.162	0.162	0.05	5	10.2	38.3
0.162	0.162	0.05	25	4.1	20.6
0.162	0.162	0.05	50	4.6	33.6
0.162	0.162	0.05	100	5.9	35.0

Tabla 5.1: Tiempos para la decoloración de la mezcla AB & OG.

El análisis de los datos de la tabla 5.1 revela que, al igual que en los sistemas con un solo contaminante, el tiempo de decoloración disminuye marcadamente cuando se incrementa la concentración de catalizador. Por otro lado, un incremento de la carga orgánica inicial conlleva a un aumento del tiempo de decoloración.

La concentración de peróxido de hidrógeno es un parámetro importante que influye en la eficiencia de la decoloración, ya que esta asociada a la velocidad de producción de radicales hidroxilo generados en el ciclo catalítico limitado por la velocidad de la reacción *RI.2*. El efecto de la concentración inicial del H₂O₂ en la decoloración la mezcla AB & OG se investigó variando concentración de 1 a 100 mM. La Figura 5.3 muestra la dependencia del t₂₀ con la [H₂O₂]₀ para idénticas concentraciones iniciales de sustratos y catalizador. Puede observarse que el aumento en la concentración inicial del peróxido de hidrógeno entre 1 y 25 mM mejoró el tiempo de decoloración de la mezcla. Sin embargo, al aumentar aún más en la dosis de peróxido por encima de 25 mM no dio lugar a una mejora significativa en la decoloración debido al secuestro de

radicales HO^\bullet mencionado en el capítulo anterior. Cabe destacar que el óptimo en este caso es 25mM, esto puede explicarse considerando que al aumentar la carga orgánica en las mezclas, la fracción de radical HO^\bullet capturada por H_2O_2 es menor y, por lo tanto, son necesarias mayores concentraciones de peróxido de hidrógeno para que el efecto del secuestro del radical hidroxilo por parte del oxidante tenga como consecuencia un mayor tiempo de tratamiento.

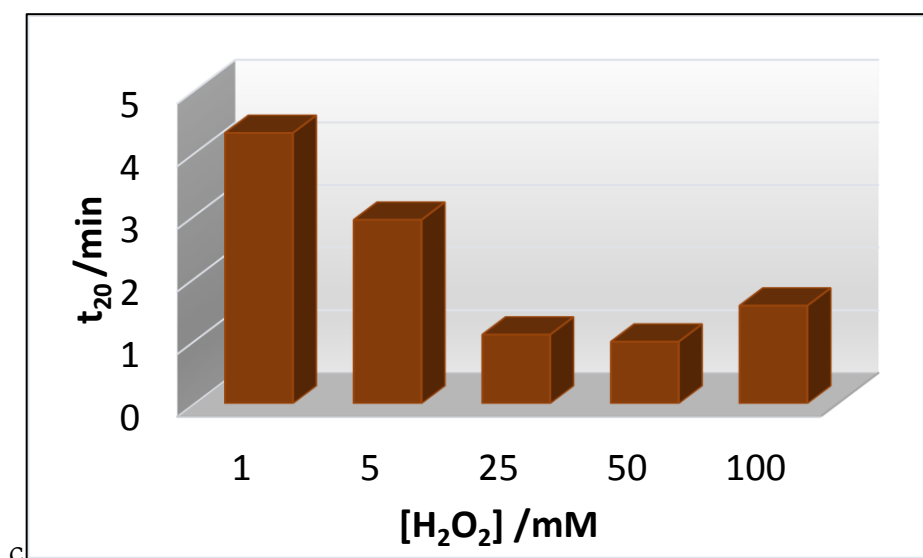


Figura 5.3. Comparación del tiempo para una decoloración del 20% de la mezcla AB & OG a distintas concentraciones iniciales de oxidante.

5.3.1.3 Estudio cinético de las mezclas AB & AR y AR & OG

Para el estudio de la evolución de las distintas mezclas binarias con AR se confeccionó la tabla 5.2 en donde se presentan los tiempos para una decoloración del 50% y 80%. Pese a las distintas escalas temporales respecto de la mezcla sin AR, puede observarse que, los tiempos para obtener los distintos porcentajes de decoloración disminuyen con la concentración de catalizador, aumentan con el agregado de materia orgánica y muestran un valor mínimo para la concentración de oxidante cercana a 25 mM. Sin embargo, el efecto que provoca el incremento de la carga orgánica sobre el tiempo de decoloración dependerá de cuál sustrato aumenta su concentración. De manera que si el aumento de materia orgánica proviene por el agregado del colorante azoico, el incremento en el tiempo de decoloración es sustancialmente menor que el observado cuando se incrementa la carga de contaminante antraquinónico.

[X] /mM	[AR] /mM	[Fe(III)] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	AB + AR		OG + AR	
				t ₅₀ /min	t ₈₀ /min	t ₅₀ /min	t ₈₀ /min
0.324	0.162	0.12	5	63.5	123.1	44.3	104.8
0.162	0.162	0.12	5	61.2	101.0	49.3	120.2
0.162	0.324	0.12	5	172.3	> 185	150.4	> 185
0.162	0.162	0.05	5	> 120	> 120	> 120	> 120
0.162	0.162	0.12	5	61.2	101.0	44.3	104.8
0.162	0.162	0.17	5	42.9	73.8	18.6	55.5
0.162	0.162	0.25	5	10.6	23.4	2.7	6.6
0.162	0.162	0.12	5	61.2	101.0	44.3	104.8
0.162	0.162	0.12	15	28.4	56.3	26.9	62.5
0.162	0.162	0.12	25	16.5	43.2	21.3	51.3
0.162	0.162	0.12	50	17.2	48.2	21.8	52.3
0.162	0.162	0.12	100	21.8	49.6	23.4	55.9

Tabla 5.2: Tiempos para la decoloración de la mezcla AB & AR y OG & AR.

Considerando, al t_{20} como una estimación grosera de la velocidad inicial de decoloración, puede observarse en la figura 5.4 que, al duplicar la concentración de OG o AB la disminución de dicha velocidad es inferior al 16%. Por otro lado, si se duplica la concentración de AR el tiempo de decoloración se triplica. Este fenómeno puede explicarse considerando que al aumentar la carga de AR, la fracción de Fe(III) comprometida por la formación del complejo se incrementa, lo que reduce sustancialmente la velocidad de generación de Fe(II) y por lo tanto la formación del radical hidroxilo, especie disparadora de los procesos que conducen a la oxidación de la materia orgánica.

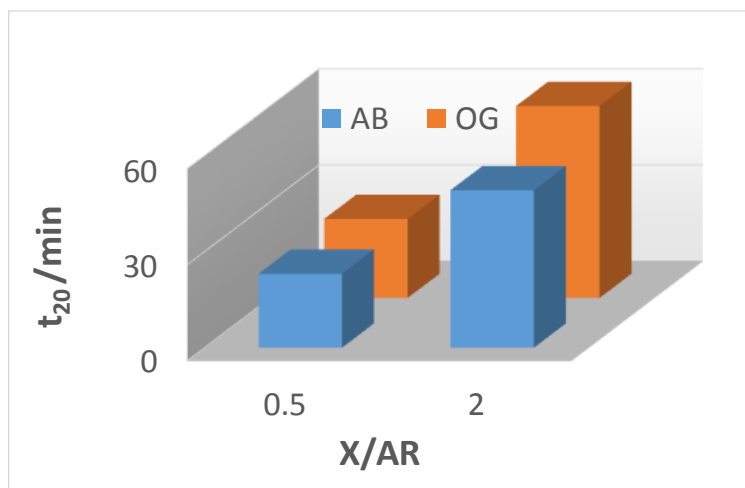


Figura 5.4: Efecto de la carga orgánica sobre el tiempo de decoloración en las mezclas AB & AR y OG & AR.

5.3.2 Mezcla ternaria

5.3.2.1 Comportamiento espectral

Finalmente se realizó el estudio de la mezcla de los tres colorantes sobre la base de la experiencia adquirida con las tres mezclas binarias.

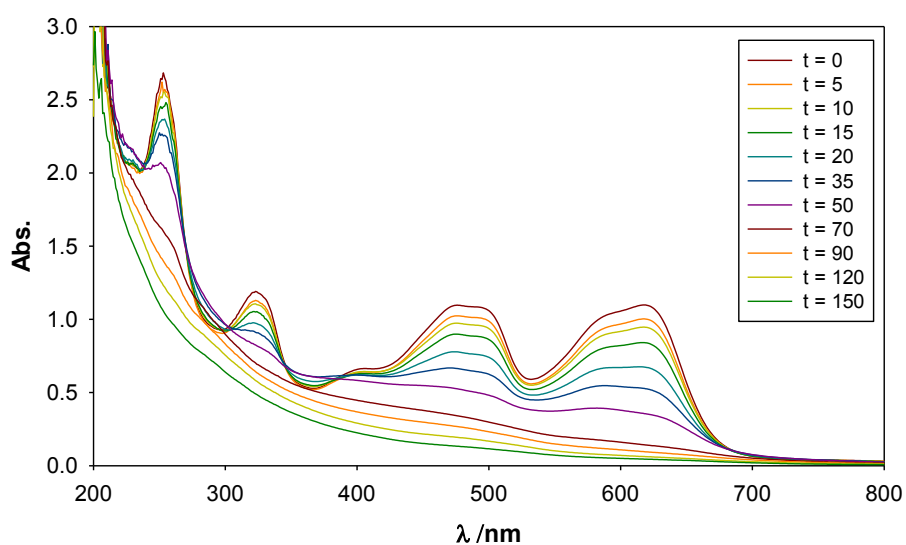


Figura 5.5: Espectro UV-Vis de la mezcla ternaria.

En la figura 5.5 se observa que el espectro UV-Vis de la mezcla ternaria presenta dos bandas de absorción en la región visible que corresponden a los máximos de absorción del AB y del OG, y dos bandas en la región UV, una cercana a 260 que pueden asociarse al máximo de AR, y la otra a 320 nm aproximadamente, relacionada principalmente a la superposición de la absorción de las bandas UV de los colorantes azoicos y una menor contribución de la AR. El análisis del decaimiento de la absorbancia de las bandas características de la mezcla en función del tiempo de reacción esta representado en la figura 5.6. Puede advertirse que la velocidad con que decae la absorbancia es practicamente la misma para las bandas correspondiente a los grupos azoicos, mientras que la relacionada a la AR es sustancialmente menor.

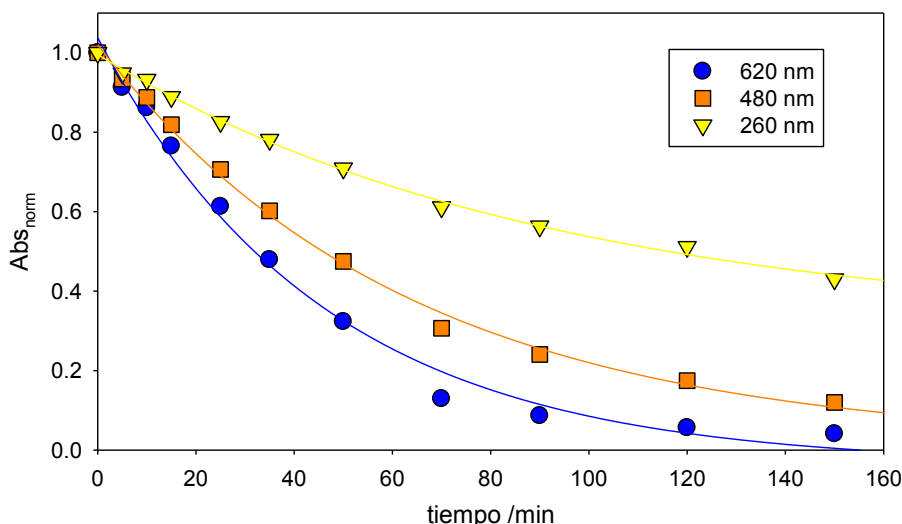


Figura 5.6: Decaimiento de la absorbancia de las bandas características de la mezcla ternaria.

5.3.2.2 Estudio cinético

Utilizando la misma metodología de análisis que para las mezclas binarias, se confeccionó la tabla 5.3 con los tiempos para una decoloración del 20%, 50% y 80%. Los resultados muestran que, al igual que para las mezclas anteriormente estudiadas, los tiempos necesarios para obtener los distintos porcentajes de decoloración disminuyen con la concentración de catalizador, y aumentan con la carga de materia orgánica

[AB] /mM	[OG] /mM	[AR] /mM	[Fe(III)] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	t ₂₀ /min	t ₅₀ /min	t ₈₀ /min
0.162	0.162	0.162	0.12	10	11.3	26.4	59.8
0.324	0.162	0.162	0.12	10	68.9	161.0	> 180
0.162	0.324	0.162	0.12	10	60.5	136.4	> 180
0.162	0.162	0.324	0.12	10	109.0	> 180	> 180
0.162	0.162	0.162	0.1	10	26.0	60.5	126.5
0.162	0.162	0.162	0.12	10	11.3	26.4	59.8
0.162	0.162	0.162	0.2	10	3.6	10.3	30.3
0.162	0.162	0.162	0.3	10	1.4	3.5	8.5
0.162	0.162	0.162	0.12	5	19.0	47.3	104.3
0.162	0.162	0.162	0.12	10	11.3	26.4	59.8
0.162	0.162	0.162	0.12	25	10.0	21.7	47.5
0.162	0.162	0.162	0.12	50	8.2	18.2	40.4
0.162	0.162	0.162	0.12	100	8.8	18.6	40.6
0.162	0.162	0.162	0.12	250	42.2	94.2	> 155
0.162	0.162	0.162	0.12	500	75.7	> 155	> 155
0.162	0.162	0.162	0.12	1000	124.1	> 155	> 155

Tabla 5.3. Tiempos para una decoloración del 20%, 50 y 80% de la mezcla triple.

Además, en línea con los resultados obtenidos con las mezclas binarias, al aumentar la concentración de AR, sustrato que compleja al catalizador, los tiempos son considerablemente mayores que los necesarios para obtener el mismo grado de decoloración en sistemas en donde los tres colorantes están en la misma proporción. Por otra parte, el incremento porcentual de los tiempos de decoloración es prácticamente el mismo al incrementar la concentración de los colorantes azoicos (Figura 5.7).

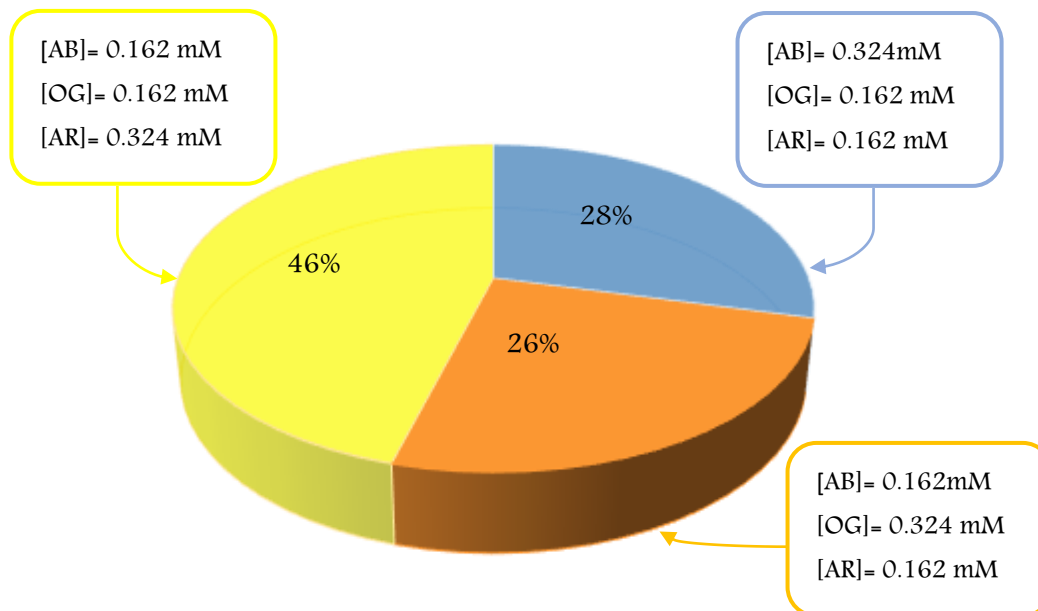


Figura 5.7. Porcentaje de aumento de t_{20} por el incremento de carga orgánica.

El comportamiento de la decoloración frente a la concentración inicial de peróxido de hidrógeno muestra un valor óptimo cercano a 50 mM. A valores inferiores el tiempo de decoloración aumenta marcadamente con la disminución de la concentración inicial de H_2O_2 , mientras que para concentraciones superiores a 50mM los tiempos de decoloración aumentan suavemente con el incremento de la concentración de oxidante. Este comportamiento tiene gran importancia desde el punto de vista económico, ya que existe una zona de la curva bastante amplia en donde se logran velocidades de decoloración muy similares con cargas muy diferentes de H_2O_2 . Cabe destacar que la carga orgánica en las mezclas triples es mayor que en las mezclas binarias, razón por la cual la concentración óptima de oxidante también es mayor. Tal como se explicó para el caso de las mezclas binarias, este comportamiento se debe a que la tasa de secuestro de $\bullet OH$ por parte del H_2O_2 es menor para mayores cargas orgánicas.

5.3.2.3 EEM correspondientes a la decoloración de la mezcla ternaria

En este trabajo se midieron las matrices de emisión-excitación (EEM), y los espectros de absorción en función del tiempo de tratamiento de la mezcla de los tres colorantes. Tanto las concentraciones iniciales como las condiciones operativas fueron las del punto central de la región experimental analizada.

Al igual que en los sistemas estudiados con colorantes individuales el campo de exploración se ajustó a longitudes de onda de excitación en el rango de 250 a 600 nm y para la emisión en el rango de 300 a 750 nm, con intervalos de muestreo de 5 y 2 nm, en los modos de excitación (Ex) y emisión (Em), respectivamente. Sin embargo, la región significativa de análisis se determinó en la zona definida por excitación es comprendida entre los 250 y 500 nm y emisiones comprendidas entre los 300 nm y los 600 nm.

En las EEM que se obtuvieron durante la decoloración de la mezcla de los tres contaminantes se observaron inicialmente dos máximos de emisión a 522 nm cuando el sistema es excitado entre 300 y 340 nm. Estas regiones presentan una gran similitud con las obtenidas para el OG, pero la velocidad de aumento de intensidad de fluorescencia es menor que la observada para la cinética de decoloración de OG. Luego de 30 minutos de tratamiento, estos máximos dejan de ser distinguibles y comienza un corrimiento de la emisión hacia longitudes de onda más cortas. A los 80 minutos de iniciada la reacción comienza a aparecer una nueva región de emisión centrada en 580 nm, esta banda llega a su máxima intensidad entre los 100 y 130 minutos. Posteriormente, la emisión fluorescente en esta región comienza a disminuir lentamente.

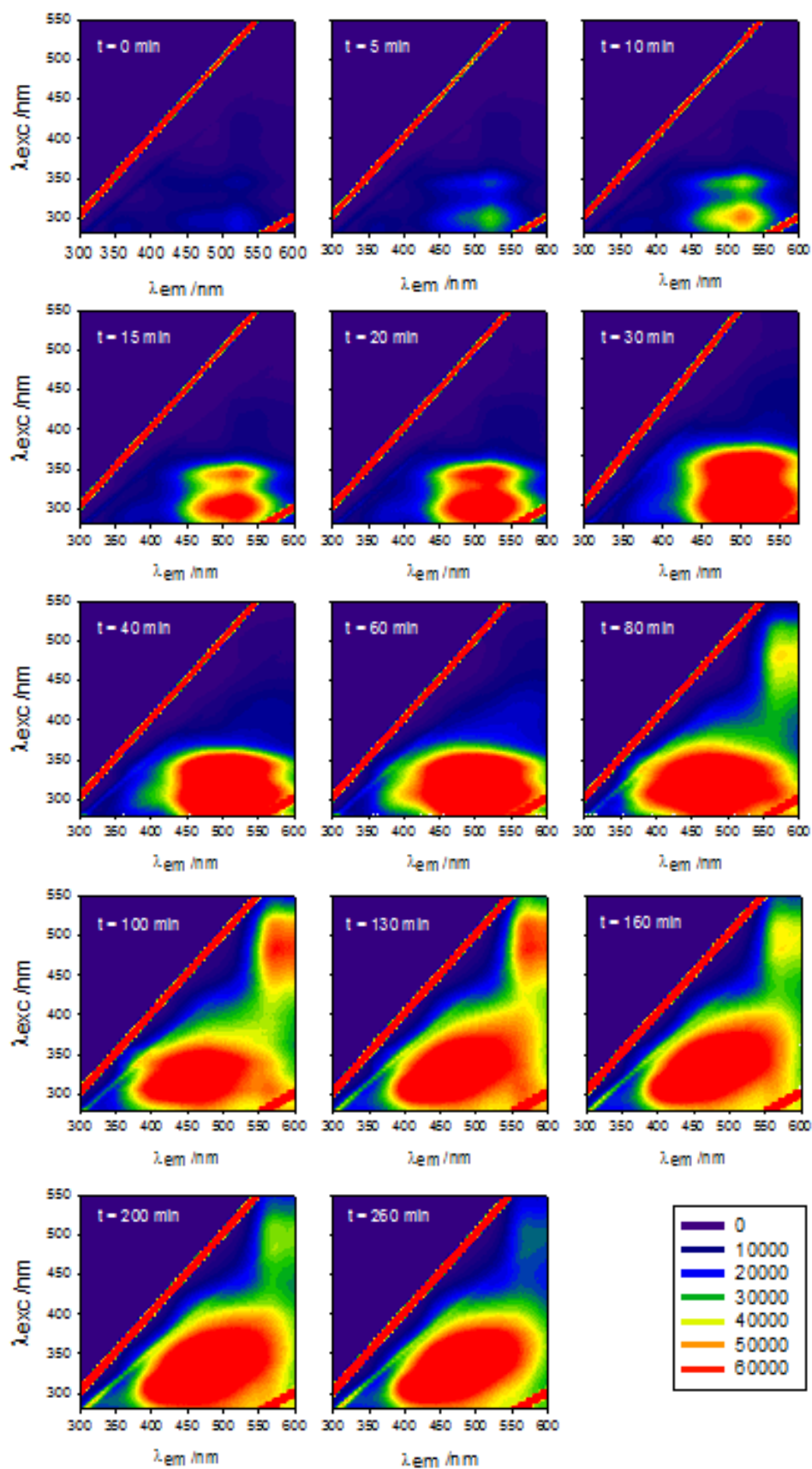


Figura 5.8: EEM para la cinética de decoloración de la mezcla de contaminantes estudiados. $[AB]_0 = 0.162\text{mM}$, $[OG]_0 = 0.162\text{mM}$, $[AR]_0 = 0.162\text{mM}$, $[\text{Fe(III)}]_0 = 0.12\text{mM}$, $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 5\text{mM}$.

Como se mencionó anteriormente, a medida que avanza la reacción la intensidad de la fluorescencia aumenta en las primeras etapas del tratamiento. Los perfiles relativos de emisión en función del tiempo de tratamiento y en función del porcentaje de decoloración se muestran en las figuras 5.9a y 5.9b, respectivamente.

En la figura 5.9b se observa que hasta un 40% de decoloración, hay un aumento prácticamente lineal de la intensidad de fluorescencia, para mayores grados de decoloración, la tasa de incremento en la emisión va disminuyendo hasta alcanzar un máximo cuando la decoloración es cercana al 90%, lo que ocurre luego de 130 minutos de iniciada la reacción (figura 5.9a).

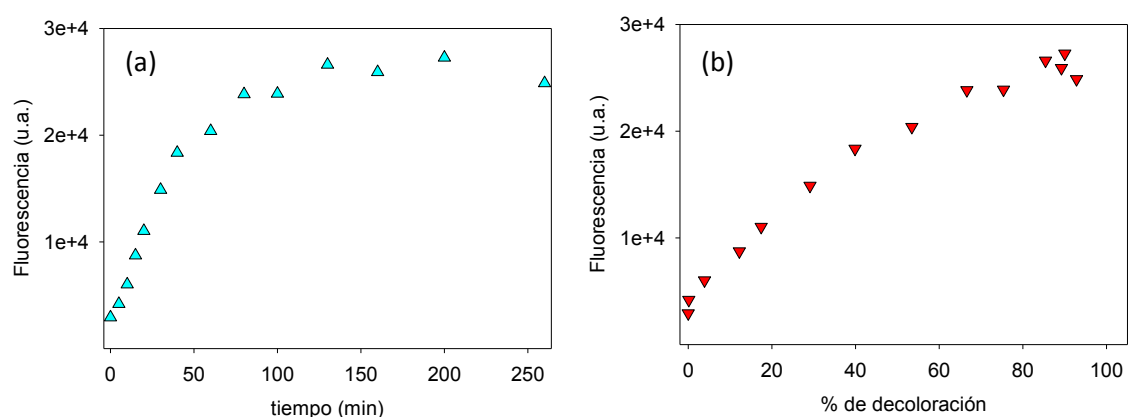


Figura 5.9: Evolución de la fluorescencia en la cinética de decoloración de la mezcla de contaminantes estudiados. (a) en función del tiempo (b) en función del porcentaje de decoloración.

Por otro lado en la figura 5.10 se muestra que para una decoloración mayor al 20% existe un corrimiento del máximo de emisión a longitudes menores, llegando a ser de 100 nm aproximadamente cuando la decoloración es cercana al 75%. El comportamiento en esta región es similar al observado para el tratamiento de OG, con la salvedad que, en el estudio realizado para el colorante individual, dicho corrimiento sucede a porcentajes de decoloración más bajos. Este resultado sugiere que, en la mezcla ternaria, el OG y sus productos de degradación son eliminados en escalas de tiempo menores que las requeridas para lograr la decoloración de la mezcla ternaria.

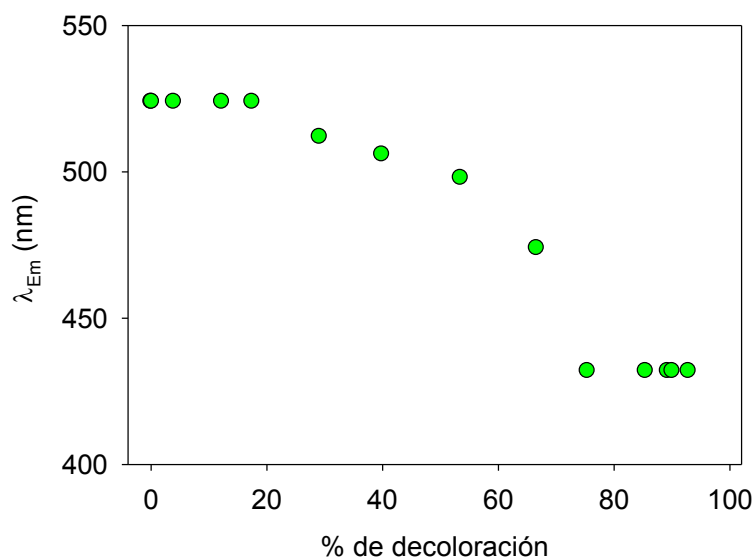


Figura 5.10: Corrimiento del máximo de emisión en función del grado de avance de la reacción.

5.4 Conclusiones

El estudio de la evolución de las mezclas en diferentes condiciones muestra que, en línea con lo observado para los tratamientos individuales, las velocidades medias de decoloración aumentan con la concentración de catalizador, disminuyen con el incremento de la carga orgánica y presentan valores óptimos para concentraciones de H_2O_2 cercanas a 25 mM y 50 mM para las mezclas binarias y la mezcla ternaria, respectivamente.

La presencia de AR en las mezclas muestra un aumento en las escalas de tiempo necesarias para la decoloración como consecuencia de la complejación entre el sustrato y el catalizador. La capacidad de AR de complejar al Fe(III) bloquea su participación en el ciclo catalítico y, por tanto, inhibe la formación de $OH\cdot$.

Las EEM correspondientes a la mezcla ternaria muestran un aumento de la intensidad de fluorescencia a medida que avanza el tratamiento. Además, para porcentajes de decoloración mayores al 20% existe un corrimiento del máximo de emisión a longitudes menores. Por otro lado, las EEM registradas luego de completar la decoloración de la MT sugieren un predominio de productos derivados de AR en las etapas finales del tratamiento.

En línea con lo observado para los tratamientos de los colorantes en forma individual, luego de haber completado la decoloración de la MT, las EEM muestran la persistencia de sustancias aromáticas que podrían considerarse potencialmente tóxicas.

5.5 Bibliografía

1. Lucas, M. S. & Peres, J. A. Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dye. Pigment.* **71**, 236–244 (2006).
2. Cai, M., Jin, M. & Weavers, L. K. Analysis of sonolytic degradation products of azo dye Orange G using liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry. *Ultrason. Sonochem.* **18**, 1068–1076 (2011).
3. Sun, J.-H., Sun, S.-P., Wang, G.-L. & Qiao, L.-P. Degradation of azo dye Amido black 10B in aqueous solution by Fenton oxidation process. *Dye. Pigment.* **74**, 647–652 (2007).
4. Mittal, A., Thakur, V. & Gajbe, V. Adsorptive removal of toxic azo dye Amido Black 10B by hen feather. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**, 260–269 (2013).
5. Khataee, A. R., Safarpour, M., Naseri, A. & Zarei, M. Photoelectro-Fenton/nanophotocatalysis decolorization of three textile dyes mixture: Response surface modeling and multivariate calibration procedure for simultaneous determination. *J. Electroanal. Chem.* **672**, 53–62 (2012).
6. Wang, S. A Comparative study of Fenton and Fenton-like reaction kinetics in decolourisation of wastewater. *Dye. Pigment.* **76**, 714–720 (2008).
7. Meetani, M. a. *et al.* Mechanistic studies of photoinduced degradation of Orange G using LC/MS. *RSC Adv.* **1**, 490 (2011).
8. Devi, L. G., Rajashekhar, K. E., Raju, K. S. A. & Kumar, S. G. Kinetic modeling based on the non-linear regression analysis for the degradation of Alizarin Red S by advanced photo Fenton process using zero valent metallic iron as the catalyst. *J. Mol. Catal. A Chem.* **314**, 88–94 (2009).
9. Meriç, S., Selcuk, H., Gallo, M. & Belgiorno, V. Decolourisation and detoxifying of Remazol Red dye and its mixture using Fenton's reagent. *Desalination* **173**, 239–248 (2005).
10. Torrades, F., García-Hortal, J. A. & Noguez, L. Fenton and photo-Fenton oxidation of a model mixture of dyes – Overall kinetic analysis. *Color. Technol.* **124**, 370–374 (2008).
11. Buxtonclive, G. V *et al.* Critical Review of Rate Constants for Reactions of Hydrated Electrons, Hydrogen Atoms and Hydroxyl Radicals ($\cdot\text{OH}$ / $\cdot\text{O}-$) in Aqueous Solution. *Am. Inst. Phys.* 513 (1987).

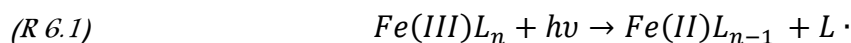


CAPÍTULO 6

PROCESOS FOTO-FENTON

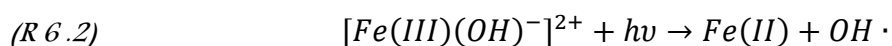
6.1 Introducción

Los procesos tipo Fenton cuentan con varias ventajas, entre ellas el fácil manejo y el bajo costo de los reactivos. Sin embargo poseen también algunas limitaciones. Por ejemplo, si bien la oxidación del compuesto de partida puede llegar a completarse, la formación de complejos entre los productos de reacción y el catalizador provoca una disminución sustancial de las velocidades de tratamiento resultando en grados de mineralización despreciables. Además, la fase lenta puede prolongarse mucho, haciendo los tiempos de reacción muy largos, lo que resulta poco práctico desde el punto de vista industrial. La estrategia más frecuentemente utilizada en los procesos Fenton y relacionados para incrementar sustancialmente las velocidades globales de reacción y aumentar de manera importante las eficiencias de mineralización es el uso de radiación visible y/o UV (procesos foto-Fenton).^[1-3] El aumento de las velocidades de reacción y del grado de mineralización se debe mayormente a la fotólisis de los complejos de Fe(III), ya sea acuo-complejos o complejos con ligandos orgánicos, que se disocian en el estado excitado para dar Fe(II) y el ligando oxidado (*R 6.1*)



donde $Fe(III)L_n$ representa todas las especies fotoreactivas de Fe(III) en el sistema,^[1] L un ligando orgánico o inorgánico^[4] (en la reacción anterior se omitieron las cargas por razones de simplicidad) y $L \cdot$ el radical orgánico generado por la pérdida de un electrón.

El proceso redox fotoquímico implica la excitación al estado LMCT (transferencia de carga ligando-metal) como paso fotofísico primario. Posteriormente, el estado LMCT de corta duración libera Fe(II) y $L \cdot$ fuera de la jaula del solvente a través de la disociación homolítica de la unión Fe(III)-L. La naturaleza de las especies oxidadas ($L \cdot$) depende de la estructura del ligando. Para la especie $[Fe(III)(OH)]^{2+}$, el complejo predominante de Fe(III) en agua a pH 3,0, la foto-reducción de Fe(III) después de la excitación de la banda de transferencia de carga desde el ligando hacia el metal (LMCT, $\lambda \sim 310\text{nm}$) está acoplada a la oxidación de HO^- , produciendo Fe(II) y $HO \cdot$.^[3,4]



Cabe señalar que *R 6.2*, además de proporcionar radicales hidroxilo, ofrece una vía adicional de formación de Fe(II) como alternativa a la reacción *R 1.2*, que es la etapa

limitante para los procesos tipo-Fenton. De esta forma, en presencia de radiación pueden incrementarse significativamente la velocidades de tratamiento.^[5]

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Reactivos y técnicas analíticas

Los ensayos se realizaron en un reactor de 500 mL, en presencia de radiación UV-visible, con agitación continua, a pH 3.0 y a 25 °C. La fotólisis se realizó con una lámpara Philips HPK 125W. El espectrofotómetro utilizado fue el Agilent Cary 60 (descrito en el capítulo 2). Se emplearon los mismos reactivos, técnicas analíticas y procedimientos que en el capítulo 4.

6.2.2 Fotorreactor

El fotorreactor utilizado es un reactor anular encamisado de 500 ml de capacidad, construido en vidrio pyrex[®]. La fuente de radiación se encuentra colocada en el eje central del reactor dentro de otro encamisado de vidrio independiente al del reactor, por el que circula agua de refrigeración para asegurar la disipación del calor producido por la lámpara. El reactor se encuentra apoyado sobre un agitador magnético que junto con un buzo magnético de 6 cm de longitud permiten el mezclado de la solución. La extracción de muestras del reactor se efectuó a través de uno de los dos puertos para muestreo ubicados en la parte superior y por el otro puerto se realizó el burbujeo de aire sintético para mantener la concentración de oxígeno disuelto en un valor constante durante los ensayos. (Figura 6.1)



Figura 6.1. Imagen del fotoreactor.

6.2.3 Metodología

En este capítulo se dará un enfoque más aplicado que en los estudios realizados anteriormente. Por este motivo, se utilizará la metodología de diseño estadístico de experimentos (DEE) centrándose en la respuesta para tiempos de tratamientos en los que se logre una alta conversión.

Los estudios cinéticos se realizaron variando las proporciones de los tres colorantes modelo, pero manteniendo constantes las concentraciones molares de catalizador y oxidante en 0.05 mM y 5 mM, respectivamente. Para evaluar el efecto de las concentraciones de los colorantes sobre las cinéticas de decoloración, se utilizó una variante del diseño experimental para mezclas (DEM) tipo simplex con puntos axiales^[6]. Este diseño se caracteriza por la simplicidad de su construcción y por la disposición simétrica de los puntos dentro de la región experimental. En los DEM los factores independientes o controlables representan proporciones de una mezcla en la

que se mantiene constante la carga total inicial (en este caso, la suma de las concentraciones molares de los colorantes presentes en la mezcla).

Como el sistema cuenta con tres componentes, las diferentes variaciones de las proporciones pueden representarse empleando un triángulo equilátero. ^[7] (Figura 6.2). En la tabla 6.1 se indican las proporciones de cada colorante en los puntos del diseño experimental.

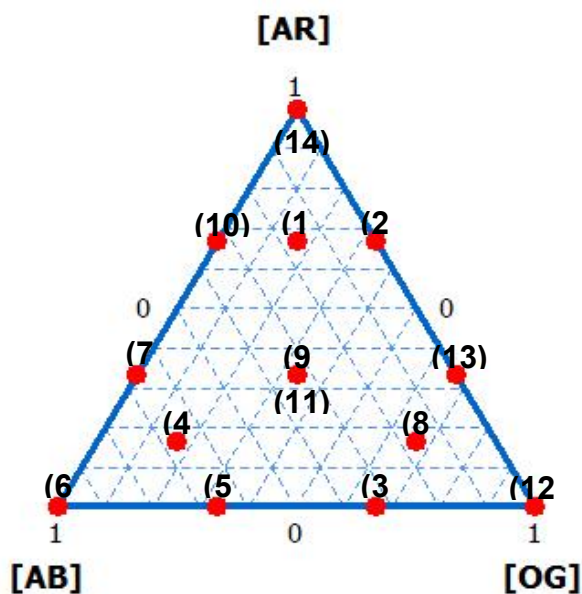


Figura 6.2. Diseño experimental mezcla tipo simplex con puntos axiales

Exp	[AR]	[AB]	[OG]
1	0.667	0.167	0.167
2	0.667	0.000	0.333
3	0.000	0.333	0.667
4	0.167	0.667	0.167
5	0.000	0.667	0.333
6	0.000	1.000	0.000
7	0.333	0.667	0.000
8	0.167	0.167	0.667
9	0.333	0.333	0.333
10	0.667	0.333	0.000
11	0.333	0.333	0.333
12	0.000	0.000	1.000
13	0.333	0.000	0.667
14	1.000	0.000	0.000

Tabla 6.1: Matriz del diseño experimental mezcla tipo simplex con puntos axiales. Las concentraciones de cada colorante se han expresado como fracciones molares.

Los puntos 1, 4 y 8 de la Figura 6.2 proporcionan información sobre la porción interior de la superficie de respuesta, es decir sobre los términos no lineales del modelo. Por otra parte, la repetición del punto central (experimentos 9 y 11) se utiliza para estimar el error experimental asociado al conjunto de ensayos. Cabe aclarar que una gran ventaja de los DEM es que pueden ampliarse con más puntos elegidos arbitrariamente o con más repeticiones de los puntos ya establecidos por el diseño.^[7]

Las respuestas obtenidas para los ensayos realizados en las condiciones previstas por el diseño pueden ser correlacionadas empleando distintos modelos matemáticos. Entre ellos: el modelo lineal consiste en términos de primer orden para cada uno de los componentes, el modelo cuadrático contempla además productos cruzados entre pares de componentes y, por último, el modelo cúbico especial adiciona términos que involucran productos de tres componentes.^[8]

6.3 Resultados.

Aplicando la misma metodología que la utilizada en el capítulo 4, el cálculo del grado de decoloración se realizó por medio de la ecuación 4.3. Además del análisis de los espectros UV-vis, para los tratamientos de decoloración en diferentes condiciones, se realizaron determinaciones de carbono orgánico total y se evaluaron los perfiles de concentración de H_2O_2 . Los resultados, presentados en la Tabla 6.2, muestran que los grados mineralización y los consumos de oxidante superan, en todos los casos, el 80%.

Ensayo	[AR]/mM	[AB]/mM	[OG]/mM	Mineralización (%)	Consumo de H ₂ O ₂ (%)
1	0.08	0.02	0.02	80	93
2	0.08	0	0.04	85	95
3	0	0.04	0.08	88	93
4	0.02	0.08	0.02	90	100
5	0	0.08	0.04	82	96
6	0	0.12	0	80	95
7	0.04	0.08	0	93	97
8	0.02	0.02	0.08	91	89
9	0.04	0.04	0.04	85	97
10	0.08	0.04	0	83	80
11	0.04	0.04	0.04	92	86
12	0	0	0.12	82	98
13	0.04	0	0.08	89	97
14	0.12	0	0	89	92

Tabla 6.2: Consumo de H₂O₂ y grado de mineralización en los ensayos realizados con el proceso foto-Fenton.

La variabilidad obtenida por comparación entre los ensayos 9 y 11, es cercana al 9 % y 12 % para las medidas de TOC y consumo de H₂O₂ lo que nos indica una buena reproducibilidad tanto en los grados de mineralización como en las estimaciones del consumo de oxidante. La pequeña variación registrada puede asociarse al error experimental inherente al método empleado para su cuantificación.

Al igual que en los capítulos 4 y 5, el estudio del sistema se realizó para el 20%, 50% y 80% de decoloración. La aplicación de la metodología de superficie de respuesta con modelos de tipo cuadrático permitió construir los contornos presentados en la figura 6.3.

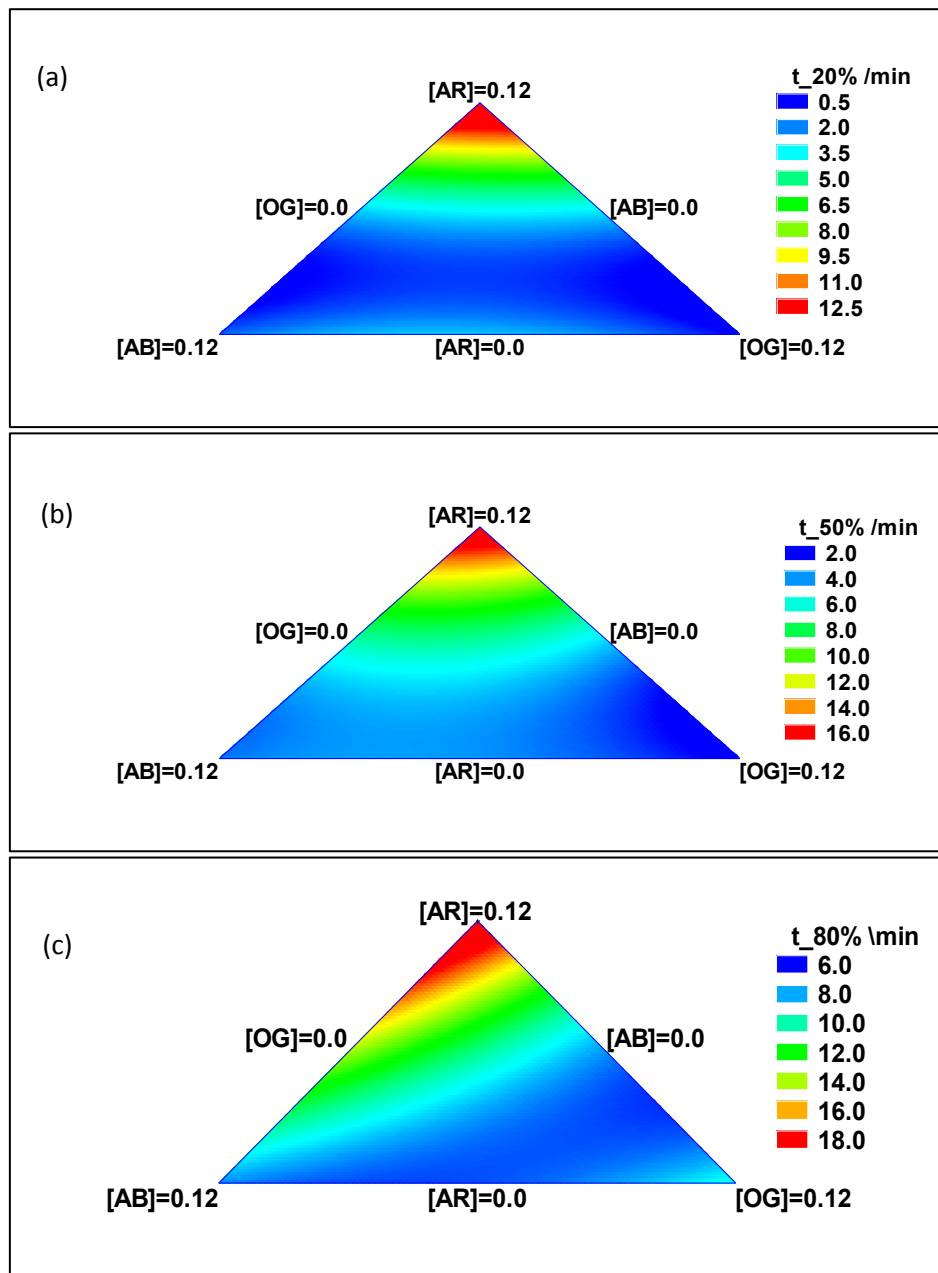


Figura 6.3. Superficies de respuesta obtenidas con el modelo cuadrático para (a) 20% (b) 50% y (c) 80% de decoloración

El análisis preliminar de las curvas de nivel presentadas en figura 6.3 revela que, en concordancia con los resultados presentados en los capítulos 4 y 5, los tiempos necesarios para obtener un 80% de decoloración son mayores para las mezclas con altas proporciones de AR.

Dado que desde un punto de vista práctico es conveniente alcanzar altos grados de decoloración, se ha puesto especial énfasis en el desarrollo de un modelo matemático que describa el comportamiento del sistema para altos niveles de decoloración. Los tiempos necesarios para obtener un 80% de la decoloración en las mezclas fueron correlacionados con distintos modelos que se presentan en la Tabla 6.3

	Modelo	MAE	P	R ²
Lineal	$t_{80\%} = 17.53^S[AR] + 7.48^S[AB] + 5.33^S[OG]$	2.51	0.0069	59.51
Cuadrático	$t_{80\%} = 20.89^S[AR] + 7.59^S[AB] + 9.33^S[OG] - 1.73^{NS}[AR][AB] - 29.92^S[AR][OG] - 6.39^{NS}[AB][OG]$	1.67	0.00968	80.86
Cúbico especial	$t_{80\%} = 20.92^S[AR] + 7.63^S[AB] + 9.37^S[OG] - 2.18^{NS}[AR][AB] - 30.37^S[AR][OG] - 6.85^{NS}[AB][OG] + 5.74^{NS}[AR][AB][OG]$	1.68	0.0275	80.87

^S Significativo (p<0.05)

^{NS} No significativo (p>0.05)

Tabla 6.3: Modelos de correlación para el tiempo medido para un 80% de decoloración. Los coeficientes obtenidos corresponden a ecuaciones en las que las concentraciones de los colorantes están expresadas como fracciones molares

Como se explicó en el capítulo 2, los valores del parámetro “p” indican si un determinado modelo es estadísticamente significativo. El valor de “p” puede oscilar

entre 0 y 1, y cuantifica la probabilidad de rechazar erróneamente la hipótesis nula. En otras palabras, “p” mide la probabilidad de encontrar diferencias en donde no las hay (error de Tipo I). En consecuencia, las probabilidades más bajas proporcionan una evidencia más fuerte en contra de la hipótesis nula.

Normalmente, asumiendo que se trabaja con un nivel de confianza del 95.0%, se seleccionaría el modelo más complejo cuyo valor de “p” fuera menor que 0.05. Siguiendo este criterio deberíamos usar un modelo cubico especial. Sin embargo, teniendo en cuenta la similitud de los valores del estadístico R^2 y del MAE para los modelos cuadrático y cubico especial, y considerando que el término correspondiente a la interacción de los tres colorantes no resultó ser significativo, se seleccionó como modelo de correlación al modelo cuadrático (los superíndices ^s y ^{NS} indican significativo y no significativo, respectivamente).

$$t_{80\%} = 20.89^s[AR] + 7.59^s[AB] + 9.33^s[OG] - 1.73^{NS}[AR][AB] - 29.92^s[AR][OG] - 6.39^{NS}[AB][OG] \quad Ec. 6.1$$

Como se observa en la ecuación 6.1 las interacciones [AR][AB] y [AB][OG] no son matemáticamente significativas para un nivel de confianza del 95%, lo cual sugiere hacer la pregunta de cuan significativos son desde un punto de vista físico. Para ello se realizó el análisis estadístico excluyendo dichas interacciones.

$$t_{80\%} = 20.8[AR] + 6.7[AB] + 8.6[OG] - 29.3[AR][OG] \quad Ec. 6.2$$

Con este ajuste el parámetro R^2 toma un valor de 79.86 y un valor estadístico p menor a 0.05.

En la figura 6.4 se contrastan los valores predichos por el modelo con los valores experimentales obtenidos. Puede observarse que los términos asociados a las interacciones matemáticamente no significativas no impactaron sobre la calidad del ajuste.

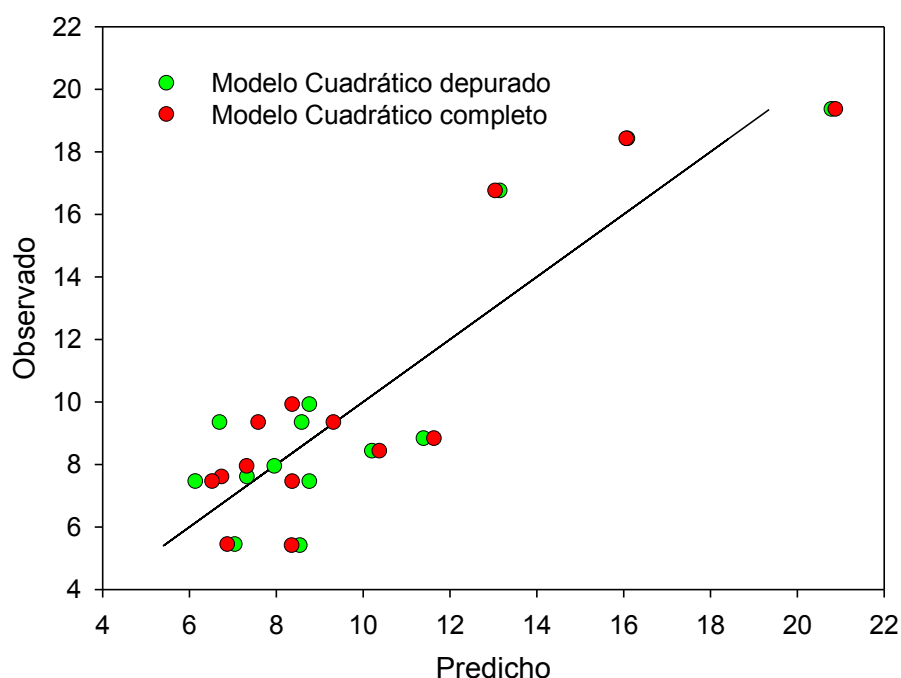


Figura 6.4: Comparación entre el modelo cuadrático completo y el depurado.

Del análisis de la ecuación 6.2 se puede advertir que los coeficientes relacionados con los colorantes azoicos son muy similares, mientras que el correspondiente a la concentración de AR es sustancialmente mayor. Por lo tanto, de modo similar al observado en el capítulo 5 en sistemas tipo-Fenton, pequeñas variaciones en la concentración del colorante antraquinónico generan un alto impacto en el tiempo de decoloración. Por otra parte, el único coeficiente cuadrático significativo es el que tiene en cuenta, simultáneamente, las concentraciones de OG y AR.

A partir del modelo cuadrático depurado se construyó la superficie de respuesta que se muestra en la Figura 6.5. La gráfica presenta un valor mínimo para el tiempo de tratamiento de la mezcla binaria conteniendo, aproximadamente, 30% de AR y 70% de OG, mientras que el máximo tiempo necesario para alcanzar un 80% de decoloración se observó para la solución conteniendo solamente AR.

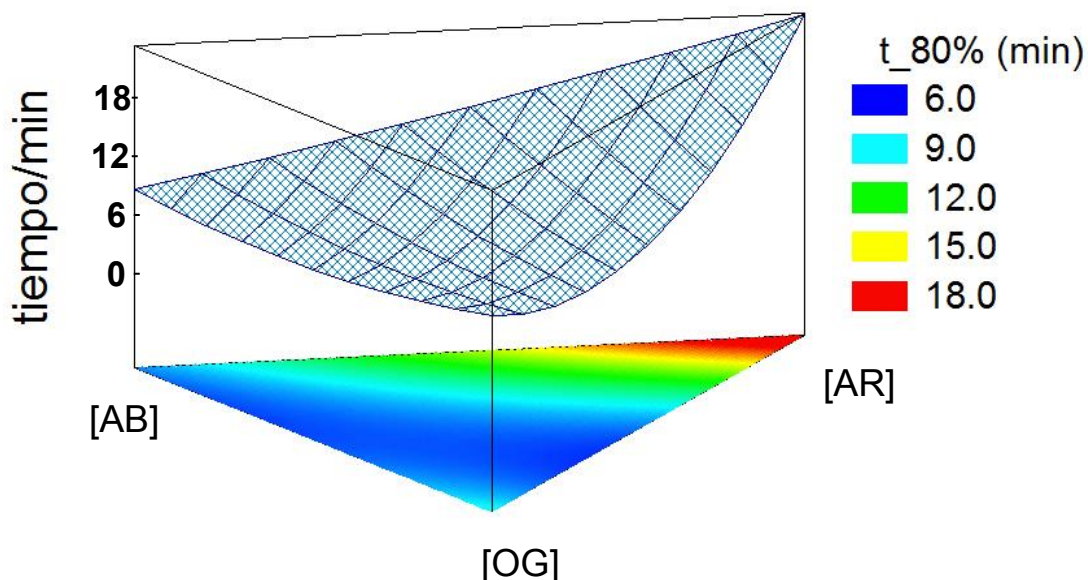


Figura 6.5: Superficie de respuesta correspondiente al modelo cuadrático depurado.

La forma de la superficie de respuesta obtenida para los sistemas foto-Fenton puede racionalizarse considerando las contribuciones relativas, en las diferentes mezclas de reacción, de los siguientes factores:

- i) Efectos de filtro interno debidos a la competencia entre las especies férricas y la materia orgánica por la radiación incidente. ^[9].
- ii) Inactivación del catalizador por la formación de complejos férricos con escasa actividad ^[4,10]
- iii) Generación de intermediarios reductores capaces de incrementar la tasa de regeneración de Fe(II) y favorecer así el proceso catalítico ^[11-13]

A continuación se discuten, en términos cualitativos, las contribuciones de los colorantes estudiados para cada uno de los factores mencionados. Sobre la base de los resultados obtenidos para los sistemas tipo-Fenton (capítulos 3, 4 y 5) pueden realizarse las siguientes consideraciones:

* Los espectros de absorción para los diferentes tratamientos individuales muestran que, en condiciones de concentración equivalentes, los efectos de filtro interno entre 300 y 500 nm son muy significativos durante el tratamiento de AB, moderados para la decoloración de OG y leves en presencia de AR.

* Los ensayos de complejación mostraron que sólo la AR puede formar complejos con Fe(III) en las condiciones de pH habituales para los sistemas Fenton. Asimismo, la comparación entre los resultados de decoloración de los colorantes individuales y de sus mezclas binarias, revela que la complejación de Fe(III) con AR conlleva a una pérdida sustancial de la actividad catalítica.

* Tanto los tiempos de decoloración como la forma de los perfiles cinéticos asociados a los tratamientos de los colorantes individuales indican que la capacidad de generar intermediarios reductores es alta para el AB (ya que su decoloración es rápida y no presenta fase de retardo) pero moderada para el OG (ya que sus tiempos de decoloración son mayores y, en algunas condiciones, sus perfiles cinéticos presentan una fase de retardo típica de procesos autocatalíticos). Por otro lado, si bien es probable que AR también genere intermediarios reductores, su efecto es insignificante respecto de la inactivación producida por la complejación.

Si bien la descripción completa del peso relativo de cada factor en cada punto de la superficie de respuesta puede resultar muy compleja, las consideraciones precedentes permiten explicar en forma sencilla tanto las posiciones relativas de los vértices (tratamientos individuales) como las dependencias de los tiempos de tratamiento en las aristas del triángulo (mezclas binarias):

- En contraste con las diferencias observadas entre las velocidades de decoloración de AB y OG en forma individual en ausencia de radiación, los tiempos de tratamiento para ambos colorantes son muy similares en sistemas foto-Fenton. Este comportamiento se debe a que, si bien el AB muestra una mayor capacidad de generación de intermediarios reductores, los efectos de filtro interno son menos marcados para el OG y, por lo tanto, en este caso es esperable una mayor contribución de procesos fotoinducidos.
- El tiempo necesario para la decoloración de AR es mucho mayor debido a que el secuestro del catalizador asociado a la complejación predomina sobre

su capacidad de generar intermediarios reductores. Por lo tanto, a pesar de que su contribución a los efectos de filtro interno es relativamente pequeña, su velocidad de decoloración es tres veces menor que las correspondientes a los colorantes azoicos en tratamientos individuales. Además, cabe destacar que este resultado sugiere que el complejo Fe(III)-AR no presenta una apreciable actividad fotocatalítica.

- Para las mezclas binarias AR & AB, a medida que aumenta la proporción de AB, aunque se incrementan los efectos de filtro interno y la contribución de procesos fotoinducidos puede disminuir, el aumento de la fracción de catalizador libre y de la capacidad de generar intermediarios reductores por parte del AB conlleva a una reducción sustancial de los tiempos de tratamiento.
- Las mezclas binarias AR & OG presentan un comportamiento similar al sistema anterior para fracciones molares de OG inferiores a 0.6. En estas condiciones, a medida que se va incrementando la fracción de catalizador libre, los tiempos de tratamiento decrecen más rápidamente que en el caso anterior debido a que la contribución relativa de vías fotoquímicas es más marcada en presencia de OG que en presencia de AB. Sin embargo, esta tendencia se observa sólo hasta fracciones molares de OG cercanas a 0.7, condición a partir de la cual los tiempos de tratamiento comienzan a incrementarse. Este comportamiento puede atribuirse a los efectos de filtro interno ejercidos por OG y a su relativamente baja capacidad de generar intermediarios reductores que permitan una contribución importante de procesos que no requieran radiación.

6.4 Conclusiones

A diferencia de lo observado para los sistemas tipo-Fenton en oscuridad, el tratamiento foto-Fenton de mezclas de contaminantes resultó adecuado para la obtención de altos grados de mineralización.

El análisis de los tiempos requeridos para alcanzar un 80% de decoloración utilizando la metodología de superficies de respuesta muestra que el ajuste más apropiado para correlacionar los datos experimentales es el modelo cuadrático. Este

modelo no pierde capacidad de predicción cuando se descartan los términos cruzados estadísticamente no significativos.

La superficie de respuesta obtenida muestra que, en presencia de altas proporciones de AR los tiempos de tratamiento se incrementan de forma notable. Esto sugiere que el complejo Fe(III)-AR no presenta una apreciable actividad fotocatalítica. Por otro lado, las mayores velocidades de tratamiento se observaron para mezclas con baja proporción de AB, y proporciones de OG y AR cercanas a 0.7 y 0.3, respectivamente.

Los resultados obtenidos en los sistemas foto-Fenton pueden racionalizarse considerando las contribuciones relativas de: i- los efectos de filtro interno, ii- la inactivación del catalizador por complejación, y iii- a la capacidad de generar intermediarios reductores que incrementen la tasa de regeneración de Fe(II).

6.5 Bibliografía

1. Zepp, R. G., Faust, B. C. & Hoigne, J. Hydroxyl radical formation in aqueous reactions (pH 3–8) of iron(II) with hydrogen peroxide: the photo-Fenton reaction. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 313–319 (1992).
2. Pérez, M. Fenton and photo-Fenton oxidation of textile effluents. *Water Res.* **36**, 2703–2710 (2002).
3. Pignatello, J. J., Oliveros, E. & MacKay, A. Advanced Oxidation Processes for Organic Contaminant Destruction Based on the Fenton Reaction and Related Chemistry. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **36**, 1–84 (2006).
4. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fenton techniques1. Nichela, D. A. *et al.* Iron cycling during the autocatalytic decomposition of benzoic acid derivatives by Fenton-like and photo-Fen. *Appl. Catal. B Environ.* **170–171**, 312–321 (2015).
5. Carlos, L. *et al.* Effect of simulated solar light on the autocatalytic degradation of nitrobenzene using Fe³⁺ and hydrogen peroxide. *J. Photochem. Photobiol. A Chemistry* **201**, 32–38 (2009).
6. Eriksson, L., Johansson, E. & Wikstrom, C. Mixture design — design generation , PLS analysis , and model usage. (1998).
7. Voinovich, D., Campisi, B. & Phan-Tan-Luu, R. *Comprehensive Chemometrics. Comprehensive Chemometrics* (Elsevier, 2009). doi:10.1016/B978-044452701-1.00084-3
8. Windig, W. & Guilment, J. Interactive Self-Modeling Mixture Analysis. *Anal. Chem.* **63**, 1425–1432 (1991).
9. GARCÍA EINSCHLAG, F. S., BRAUN, A. M. & OLIVEROS, E. in *Handbook of Environmental Chemistry: Environmental Photochemistry Part III* 301–342 (Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2015).
10. Costante, M., Somma, S., Rodriguez Nieto, F. & Carlos, L. Degradacion del colorante Alizarina Roja S en sistemas tipo Fenton en ausencia de irradiación. *Congreso de Ciencias Ambientales* (2013).
11. Chen, R. & Pignatello, J. J. Role of Quinone Intermediates as Electron Shuttles in Fenton and Photoassisted Fenton Oxidations of Aromatic Compounds.

Environ. Sci. Technol. **31**, 2399–2406 (1997).

12. Du, Y., Zhou, M. & Lei, L. Role of the intermediates in the degradation of phenolic compounds by Fenton-like process. *J. Hazard. Mater.* **136**, 859–65 (2006).

13. Rodriguez, S., Vasquez, L., Romero, A. & Santos, A. Dye Oxidation in Aqueous Phase by Using Zero-Valent Iron as Persulfate Activator: Kinetic Model and Effect of Particle Size. *Ind. Eng. Chem. Res.* **53**, 12288–12294 (2014).

PARTE III

ANÁLISIS QUIMIOMÉTRICO

“La información es un caos; el conocimiento es el ordenamiento espontaneo de ese caos; libertad es surfear la ola de esa espontaneidad”

Hakim Bey



CAPÍTULO 7

RESOLUCIÓN MULTIVARIADA DE CURVAS

7.1 Introducción

En numerosos estudios de degradación de colorantes con PAOs los perfiles cinéticos de los contaminantes generalmente son estimados mediante procedimientos de calibración univariada, en los que se consideran las absorbancias a una única longitud de onda en función del tiempo de tratamiento.^[1,2] Estas metodologías sólo dan información acotada sobre el comportamiento de la especie a degradar y pueden conducir a resultados erróneos en casos en los que haya más de un contaminante en la mezcla inicial, o se generen productos de reacción coloreados, o se presenten equilibrios entre especies cuyas proporciones puedan modificarse en el transcurso de la reacción.^[2]

En la primera parte del presente trabajo de Tesis se realizó un análisis cualitativo sobre el comportamiento de la decoloración y la mineralización de los colorantes individuales y de sus mezclas para procesos tanto tipo-Fenton como foto-Fenton. En esta segunda parte de la Tesis se presentarán procedimientos mucho más potentes para el análisis de los datos espectroscópicos que se basan en la aplicación de técnicas quimiométricas. En particular, en este capítulo se analizarán las matrices de espectros UV-visible con el algoritmo denominado MCR-ALS, que permite la resolución multivariada de curvas mediante la aplicación de cuadrados mínimos alternados con restricciones^[3]. Este método permite obtener información acerca de las cinéticas y de los mecanismos de decoloración de los contaminantes estudiados.

En principio, la aplicación del algoritmo MCR-ALS al análisis de las matrices de datos formadas por los espectros UV-visible obtenidos durante el proceso de decoloración, permite estimar los perfiles, tanto espectrales como de concentración, que gobiernan el comportamiento espectrofotométrico de las mezclas de reacción. Esta estrategia de análisis constituye una metodología relativamente rápida y útil, tanto para monitorear el avance del tratamiento de los colorantes como para obtener información sobre la presencia de compuestos intermediarios.^[4] Sin embargo, como se explicó en la sección 1.8, a pesar de que el algoritmo MCR-ALS se ha utilizado exitosamente para el estudio de sistemas relativamente simples tales como procesos cinéticos o equilibrios que involucran un número reducido de especies químicas, son relativamente escasos los estudios que muestran la aplicación de esta metodología para

el análisis de la degradación de contaminantes mediante PAOs^[2,5]. Además, en algunos casos, aunque las deconvoluciones reportadas permiten una correcta reproducción matemática de los datos experimentales, los perfiles obtenidos son cuestionables desde un punto de vista físico. ^[2,5]

Esta limitación que presenta el algoritmo MCR-ALS para sistemas complejos se debe tanto a la existencia de ambigüedades rotacionales como a la presencia de deficiencias de rango. Como se explicó anteriormente, las ambigüedades rotacionales surgen debido a que existen infinitas parejas de matrices de concentración y de espectros cuyo producto ($C.S^T$) puede reproducir los valores de la matriz de espectros resueltos en el tiempo (D) con igual calidad de ajuste. Por otra parte, las deficiencias de rango se presentan en matrices en las que el número de factores que contribuyen significativamente a la varianza de los datos es menor que el número de especies químicas presentes. Finalmente, cabe destacar que las dificultades en el proceso de deconvolución pueden acentuarse cuando se analizan matrices con relaciones señal/ruido bajas y/o cuando las especies contribuyentes presentan alta correlación entre sus perfiles espectrales o cinéticos.

Una estrategia muy utilizada, que facilita el análisis espectral en sistemas tan complejos como la degradación de contaminantes en PAOs, es la concatenación de matrices. La concatenación o aumento de matrices consiste en construir una matriz expandida utilizando la información recogida con una misma técnica analítica en varios ensayos realizados sobre un mismo sistema pero en diferentes condiciones experimentales (concatenación por columnas), o empleando la información asociada a un único ensayo pero monitoreado con diferentes técnicas analíticas (concatenación por filas). Si los experimentos se diseñan correctamente, el encadenamiento de matrices puede eliminar las deficiencias de rango, reducir sustancialmente las ambigüedades rotacionales e incrementar la relación señal ruido.

7.2 Aplicación de MCR-ALS al estudio de colorantes individuales

7.2.1 Metodología

Para la aplicación de esta técnica quimiométrica, con el fin de reducir la ambigüedad rotacional del sistema en estudio, se prepararon matrices de datos aumentadas cuyas filas corresponden a los espectros obtenidos para diferentes tiempos en todas las cinéticas realizadas para cada colorante (t) y un bloque final de filas de calibración correspondiente a los espectros del oxidante, del catalizador y del contaminante considerado (r_p). Las columnas de dicha hipermatriz corresponden a las trazas registradas a longitudes de onda comprendidas entre 225 y 800 nm.

La figura 7.1 presenta la estructura del tratamiento MCR-ALS para las matrices de datos registrados durante la decoloración de los distintos colorantes individuales.

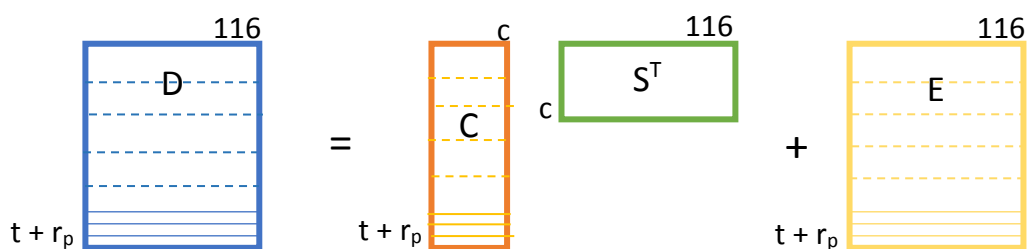


Figura 7.1: Esquema de análisis MCR-ALS para los colorantes individuales.

El número de componentes (c) se estimó utilizando SVD (sección 2.2.2.1 del capítulo 2) y además aplicando un procedimiento de prueba y error, es decir que se realizó el estudio para $c-1$, c y $c+1$ especies. En base al conocimiento del sistema, a la calidad de ajuste del modelo y al sentido físico de los resultados se estableció el valor óptimo para el número de contribuciones necesarias.

Posteriormente, para la estimación inicial de los espectros de los intermediarios se utilizó el algoritmo SIMPLISMA (sección 2.2.2.1 del capítulo 2).

Las restricciones utilizadas fueron:

\Rightarrow No Negatividad, tanto para la matriz de espectros (S) como para la de concentraciones (C).

- ⇒ Unimodalidad para los perfiles de concentración.
- ⇒ Selectividad de los espectros, es decir que se “forzó” a que los reactivos tengan el perfil espectral del colorante, del peróxido de hidrogeno (influyente únicamente en los experimentos en los que se mapeó la concentración de oxidante) y del catalizador (que no tuvo relevancia en los ajustes dada su baja contribución a la absorción total de las soluciones). Además, para el caso del AR también se incluyó el espectro del complejo (obtenido por el estudio MCR-ALS de la complejación entre contaminante y el catalizador).

7.2.2 Resultados:

7.2.2.1 Empleo del algoritmo MCR-ALS con las restricciones existentes

En unos pocos trabajos se ha aplicado el algoritmo MCR-ALS para el análisis de matrices aumentadas asociadas a Procesos Avanzados de Oxidación.^[2,5] En estos casos se han empleado las restricciones “clásicas” mencionadas en el capítulo 2. Sin embargo la aplicación de estas restricciones clásicas resulta insuficientes y frecuentemente conducen a resoluciones poca satisfactoria. A modo de ejemplo, la figura 7.2 muestra los resultados obtenidos al aplicar estas estricciones clásicas para el análisis de la degradación del colorante AB.

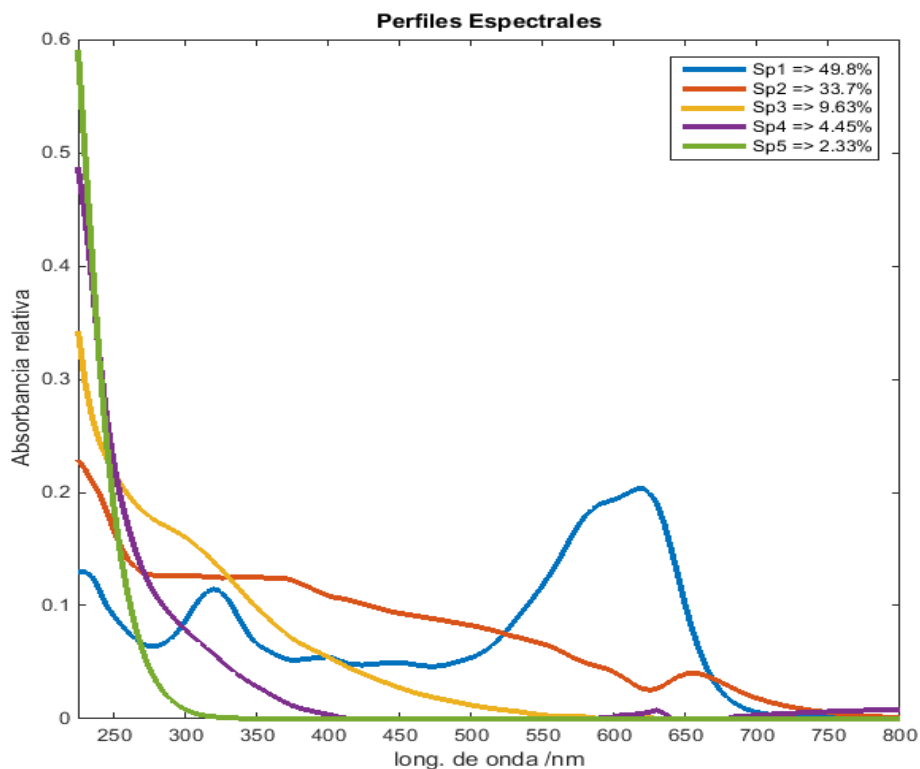


Figura 7.2: Espectros obtenidos por la aplicación de el algoritmo MCR-ALS con las restricciones clásicas para la cinética de decoloración el AB.

Como puede observarse en la figura 7.2, la especie denominada Sp2 presenta una alta correlación con la especie denominada Sp1, lo que sugiere una importante ambigüedad rotacional en la resolución obtenida.

La obtención de resultados no satisfactorios con las restricciones existentes nos alentó a trabajar, en el contexto de esta tesis, en el desarrollo de nuevas restricciones con el objetivo de atenuar el acoplamiento espectral y reducir de este modo las ambigüedades rotacionales.

Considerando que el objetivo del presente estudio estuvo centrado en la extracción de información cinética, la primer restricción adicional que se desarrolló fue la distinción de especies entre reactivos, intermediarios y productos. Este tipo de restricción se implementó a partir de una combinación entre la condición de selectividad y una variante de la condición de unimodalidad, disponibles en el algoritmo clásico. En otras palabras, se desarrolló una nueva función capaz de imponer a los reactivos y a los productos, la condición de presentar perfiles decrecientes y crecientes, respectivamente. Asimismo, la función desarrollada impone

la condición de que las concentraciones iniciales de intermediarios y productos de reacción sean nulas.

Por otro lado, debido a que en los Procesos Avanzados de Oxidación generalmente se produce gran cantidad de productos de reacción y en pequeñas concentraciones, los espectros de las mezclas de reacción van perdiendo estructura con el avance del tiempo de tratamiento. Esta pérdida de estructura espectral, asociada a la superposición de múltiples contribuciones, conlleva a severas deficiencias de rango que condicionan el comportamiento del algoritmo MCR-ALS. En consecuencia, la resolución MCR-ALS frecuentemente presenta problemas de acoplamiento espectral como los que se observan en la Figura 7.2. En este contexto, en el marco del presente trabajo de Tesis, se implementaron funciones adicionales para permitir el suavizado de los perfiles, tanto espectrales como de concentración, obtenidos durante las etapas del proceso iterativo. El funcionamiento de las funciones de suavización implementadas, basadas en el método de filtración de señales desarrollado por A. Savitzky y M. Golay^[6], se describe en el anexo II.

Para la implementación de las restricciones desarrolladas, se elaboró una nueva interfaz gráfica, que fue incorporada al conjunto de interfaces gráficas que frecuentemente se utiliza para facilitar la aplicación del algoritmo MCR-ALS (Anexo I). En la figura 7.3 se muestra la interfaz gráfica con las restricciones implementadas en este trabajo de tesis.

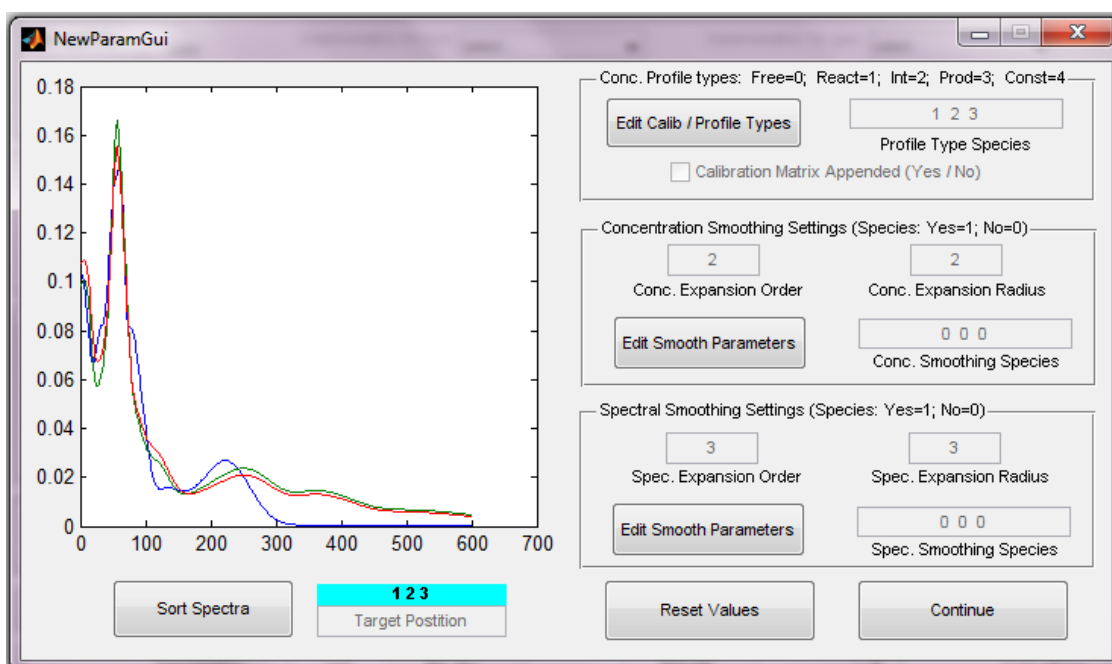


Figura 7.3: interfaz gráfica con las nuevas restricciones.

La ventana presentada en la figura 7.3 puede separarse en cuatro regiones:

- A la izquierda de la interfaz se dispone de una herramienta que permite modificar la asignación de los números de las especies,
- En el extremo superior derecho aparece el acceso a la función que permite indicar, a través de los números 1,2,3,4 o 0 si la contribución considerada corresponde a un reactivo (sólo decrece), un intermediario (el perfil puede pasar por un máximo), un producto (sólo crece), una especie con concentración constante durante el tratamiento (por ejemplo un catalizador) o si se trata de una especie a la que no debe aplicarse la restricción de unimodalidad (impurezas por ejemplo), respectivamente.
- En la región central derecha se ubica una herramienta que permite filtrar los perfiles de concentración con la metodología Savitzky-Golay. En general, este filtro se utiliza cuando en las matrices hay errores en la línea de base de los espectros de absorción. El orden de expansión corresponde al grado del polinomio de Savitzky-Golay y el radio está asociado al número de datos a derecha e izquierda de cada punto que se consideraran para realizar expansión del desarrollo de Taylor (en el anexo II se explica el criterio utilizado para filtrar las curvas, el cual fue desarrollado en el marco de un curso de posgrado).
- En el extremo inferior derecho está ubicada la herramienta, que utiliza al igual que en el caso anterior, el filtro Savitzky-Golay para el suavizado de los perfiles espectrales y atenuar los acoplamientos presentados en la Figura 7.2.

La aplicación de estas nuevas restricciones permitió mejorar la estabilidad del algoritmo MCR-ALS para matrices con deficiencias de rango y, en muchos casos, disminuir sustancialmente los problemas de acoplamiento espectral. En la Figura 7.4 se muestran los perfiles obtenidos a partir del análisis del mismo conjunto de datos que el presentado en la Figura 7.2, pero aplicando las restricciones desarrolladas en el presente trabajo de Tesis.

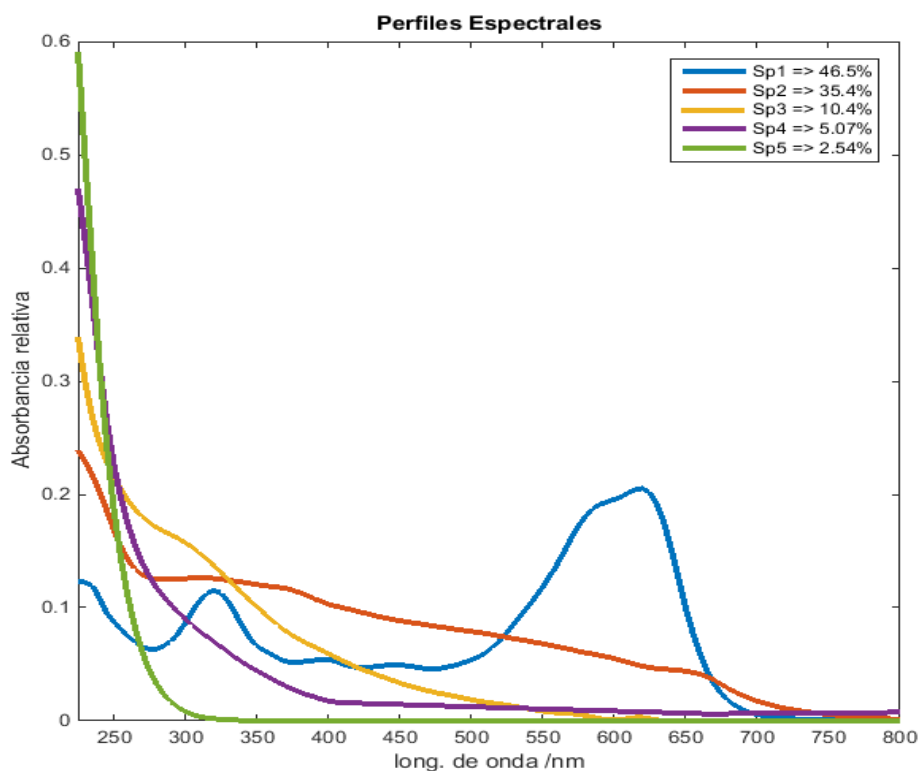


Figura 7.4. Espectros obtenidos por la aplicación de el algoritmo MCR-ALS implementando nuevas restricciones para la cinética de decoloración el AB.

Cabe destacar que la propiedad intelectual del conjunto de funciones desarrolladas, que incluye tanto la implementación de las nuevas restricciones como la interfaz gráfica, fue registrada en la Dirección Nacional del Derecho de Autor (Expte. 5299136). Los resultados que se presentarán a continuación fueron obtenidos a partir del análisis de las cinéticas de decoloración presentadas en los capítulos 4 y 5 con el algoritmo MCR-ALS modificado mediante la incorporación de las nuevas restricciones.

7.2.2.2 Estudio cinético de decoloración del AB

El resultado más satisfactorio se obtuvo con un modelo de 5 contribuciones. En la figura 7.5 se muestran los perfiles espectrales asociados a cada contribución, el primero corresponde al Negro Acido 1, el quinto al peróxido de hidrogeno, el segundo y tercero a intermediarios de la decoloración, y el cuarto a los productos. En este punto es conveniente aclarar que, dadas las limitaciones del proceso de resolución asociadas a la baja especificidad de la espectroscopia UV-Vis y a la gran cantidad de especies

químicas formadas en las mezclas de reacción de los PAOs, las contribuciones Sp2, Sp3 y Sp4 no corresponden a ninguna sustancia química en particular sino que deben considerarse como representativas de conjuntos de especies que comparten perfiles de evolución temporal comunes y permiten, dentro del error experimental, reproducir la matriz de datos (D).

Como puede observarse en los espectros de la figura 7.4 la contribución I1 (Sp2 en la figura), es representativa de un conjunto de especies que contienen una proporción apreciable de estructuras que conservan la conjugación extendida a través del grupo $-N=N-$. Por el contrario, la contribución I2 (Sp3 en la figura) es representativa de un grupo de especies formadas por rutas que involucran el ataque y la ruptura de los enlaces azoicos.

Cabe destacar que con estos 5 espectros pudo lograrse una reproducción satisfactoria ($\text{lof} = 5.99\%$ y $R^2 = 99.64\%$) de la hipermatriz (D) conteniendo la información espectral asociada al a totalidad de los tratamientos “individuales” sobre el colorante AB. A modo de ejemplo, en la figura 7.5 se compara la matriz experimental registrada para la degradación de AB en el punto central del mapeo de condiciones con la matriz de residuos correspondiente.

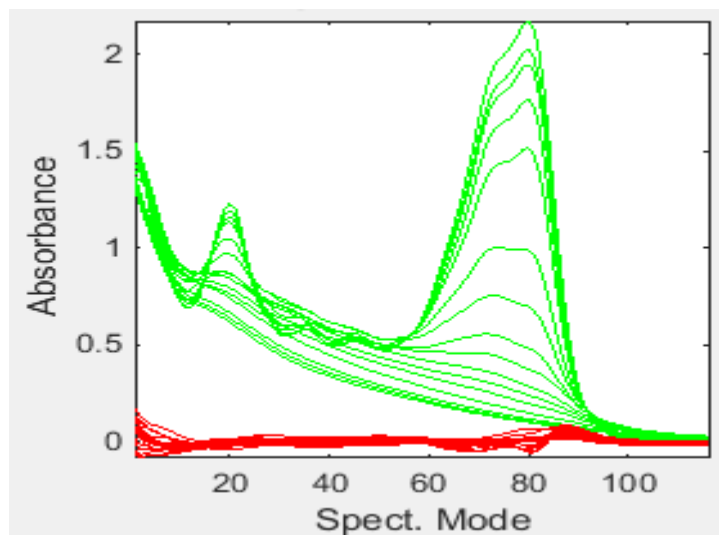


Figura 7.5: Matriz experimental del AB y sus residuos.

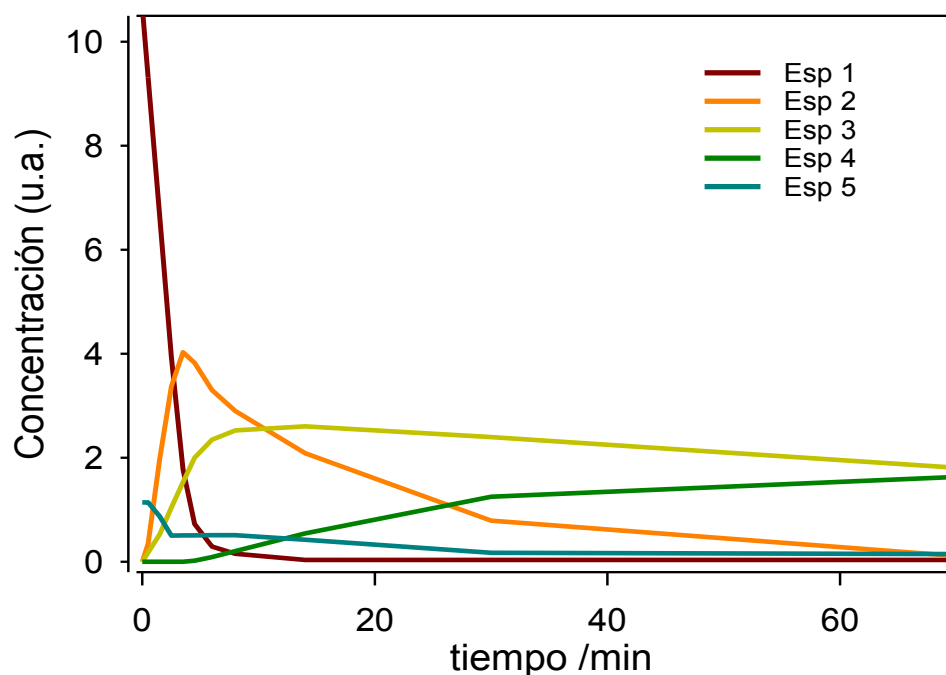


Figura 7.6: Perfil de concentraciones para $[AB]_0 = 0.162\text{mM}$, $[\text{Fe (III)}] = 0.05\text{mM}$ y $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 5\text{mM}$.

En la figura 7.6 se muestran los perfiles de concentración de las 5 contribuciones para el experimento realizado en el punto central del dominio experimental ensayado. Puede observarse que el perfil correspondiente al colorante AB alcanza concentraciones despreciables en menos de 8 minutos de tratamiento. Por otra parte, los perfiles muestran que la escala temporal en la que evoluciona el conjunto de intermediarios representado por I1 (Esp 2 en la Figura 7.6) es significativamente menor que la escala temporal asociada al conjunto de especies representado por I2 (Esp 3 en la Figura 7.6). Este comportamiento sugiere que I1 corresponde a un conjunto de intermediarios formados en etapas tempranas del proceso de decoloración que, por lo tanto, incluye una importante proporción de estructuras azo-conjugadas. En contraste, el perfil de I2 es más bien representativo de otro grupo de intermediarios, producidos en etapas posteriores, en el que predominan especies que fueron formadas a través de rutas que involucraron el ataque a los grupos azoicos y, en consecuencia, no conservan la conjugación extendida. Finalmente, el espectro del producto (Esp 4 en la Figura 7.6) representa al conjunto de sustancias formadas en etapas tardías del tratamiento, que han experimentado varios pasos de transformación oxidativa y, por lo tanto, poseen una contribución muy pequeña de estructuras aromáticas extendidas.

Con el objeto de evaluar la calidad de los resultados asociados al MCR, en la figura 7.7 se comparan los perfiles cinéticos estimados por espectroscopia UV-Vis (calibración univariada) y los calculados a partir el análisis quimiométrico (calibración multivariada), con los perfiles obtenidos por HPLC.

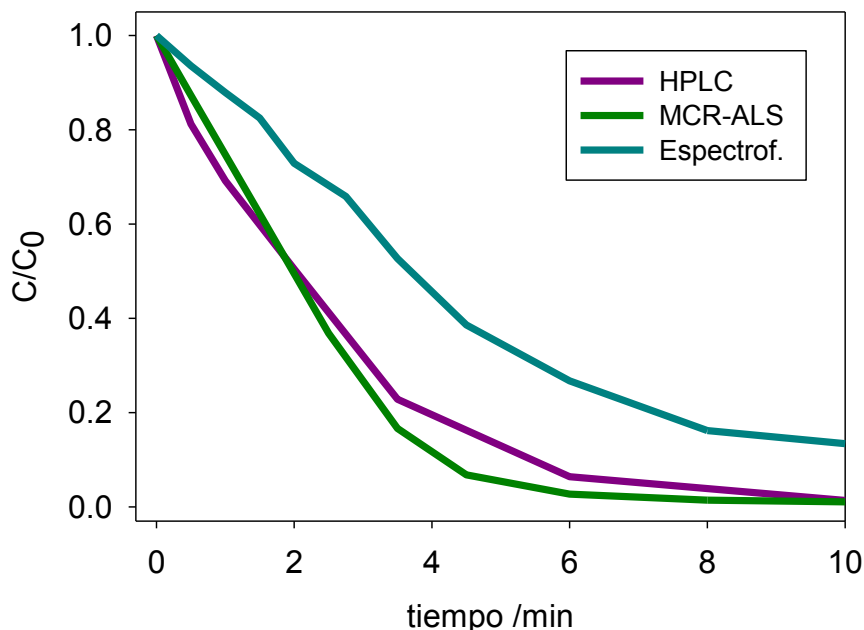


Figura 7.7: Espectros obtenidos por cromatografía, MCR-ALS, y espectrofotometría. $[AB]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$ y $[H_2O_2]_0 = 15\text{mM}$.

En la figura 7.7 puede observarse la similitud entre los perfiles estimados por MCR y los obtenidos por cromatografía líquida. Por otro lado, el perfil de decoloración a 620 nm medido a partir de los espectros de absorción difiere significativamente, lo que revela que los intermediarios de degradación del AB interfieren sustancialmente en la estimación del perfil de decaimiento del colorante.

Es importante señalar que si bien los perfiles del modelo MCR-ALS mostrados en las figuras 7.5 y 7.6 corresponden a un experimento en particular, fueron obtenidos a partir de la resolución de la matriz expandida conteniendo la información de la totalidad de los ensayos de decoloración de AB y empleando un único el juego de espectros (matriz S^T , Figura 7.4) común para todos los ensayos (ver Fig 7.1). En este contexto, es posible utilizar los perfiles de concentración del colorante, resueltos para cada ensayo particular, para evaluar el efecto de las condiciones experimentales sobre los perfiles de degradación del contaminante (Esp 1). Los resultados se presentan en la

Figura 7.8 y muestran una excelente concordancia con las tendencias observadas a partir del análisis cualitativo realizado en la primera parte de este trabajo de tesis (capítulo 4). En otras palabras, el análisis MCR-ALS sugiere que, de modo similar a lo observado para los tiempos de *decoloración global* de las soluciones, los tiempos de *degradación del contaminante* disminuyen con el aumento de la concentración de catalizador, aumentan con la carga orgánica inicial y presentan un valor mínimo para concentraciones iniciales de oxidante cercanas a 15mM.

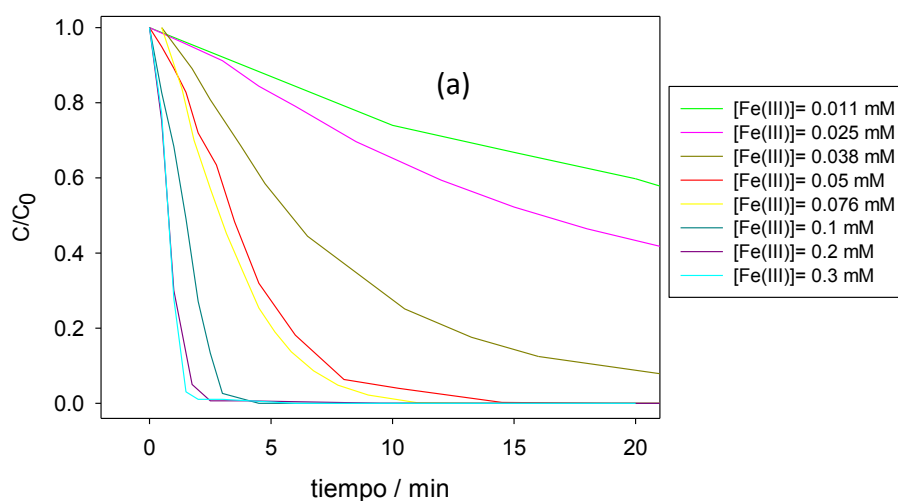


Figura 7.8: Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[AB]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 15 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 15 \text{ mM}$. (c) $[AB]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

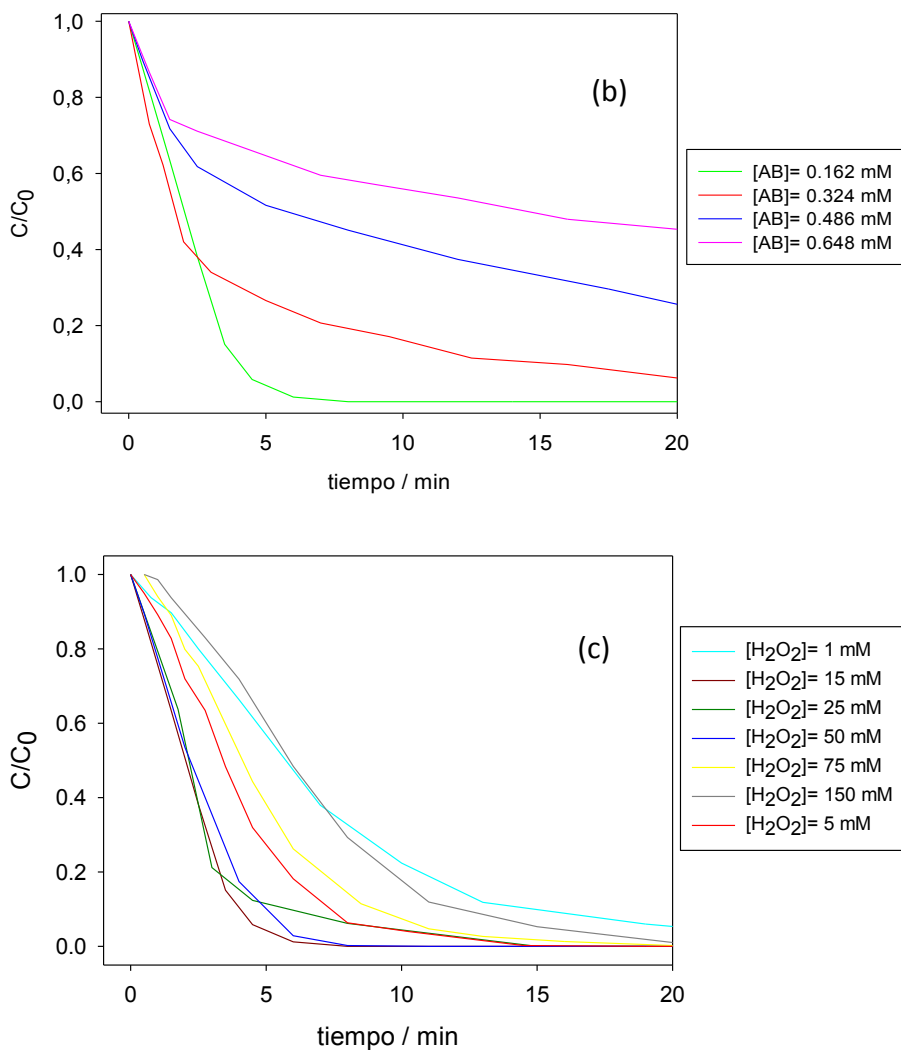


Figura 7.8 (continuación): Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[AB]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 15 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 15 \text{ mM}$. (c) $[AB]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

7.2.2.3 Estudio cinético de decoloración del OG

Al igual que para la matriz expandida del AB, para los ensayos de tratamiento de OG el mejor compromiso, entre calidad de ajuste y significado físico, se obtuvo con un modelo de 5 contribuciones (lof = 6.06% y $R^2 = 99.63\%$). Los perfiles espectrales y temporales correspondientes se muestran en la Figura 7.9. La contribución denominada Esp 1 corresponde al OG, las contribuciones Esp 2 y Esp 3 representan intermediarios de la decoloración, la contribución Esp 4 representa a los productos

generados en etapas avanzadas del tratamiento y el quinto espectro corresponde al peróxido de hidrogeno.

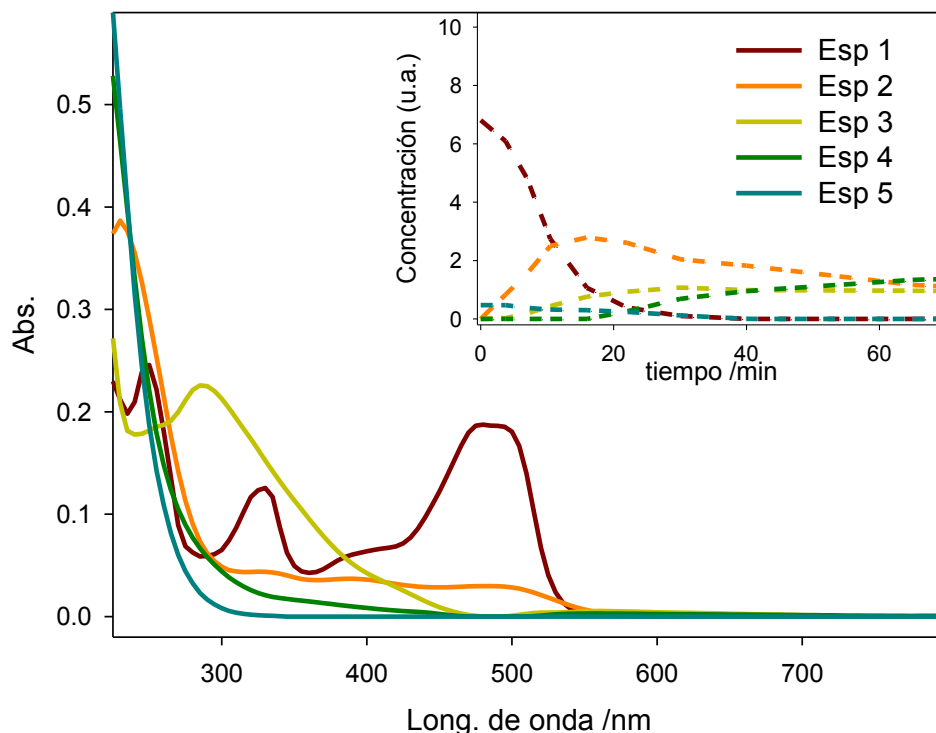


Figura 7.9. Espectros obtenidos por MCR-ALS. Inserciones: perfil de concentraciones para $[OG]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$ y $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

Para este sistema, puede aplicarse un razonamiento muy similar al correspondiente a los experimentos de degradación de AB. Sin embargo, a pesar de que las tendencias generales son similares, claramente se observa que las escalas de tiempo asociadas al proceso son más largas. Además, tanto el perfil de concentración del colorante como la evolución temporal de la contribución Esp 2 (que representa a un conjunto de sustancias con una alta proporción en estructuras cuyo enlace $-N=N-$ no ha sido comprometido y que podrían considerarse como intermediarios producidos en etapas tempranas del proceso oxidativo) sugieren un comportamiento cinético de tipo autocatalítico para el centro del dominio experimental asociado al OG. Cabe recordar que, como se ha discutido en capítulos anteriores, los resultados del presente trabajo de Tesis sugieren que la generación de especies reductoras que aceleren el proceso catalítico en sistemas tipo-Fenton tiene menor peso para las etapas iniciales de los ensayos de decoloración de OG que para las correspondientes al AB.

El análisis de los perfiles de concentración de la figura anterior revela que para el punto central del dominio experimental, el OG desaparece luego de 23 minutos. La figura 7.10 muestra la comparación entre las estimaciones del perfil de OG empleando calibración univariada (el decaimiento de absorción se fijó a 480nm) o multivariada (MCR-ALS) y el perfil de decaimiento del OG obtenido por HPLC.

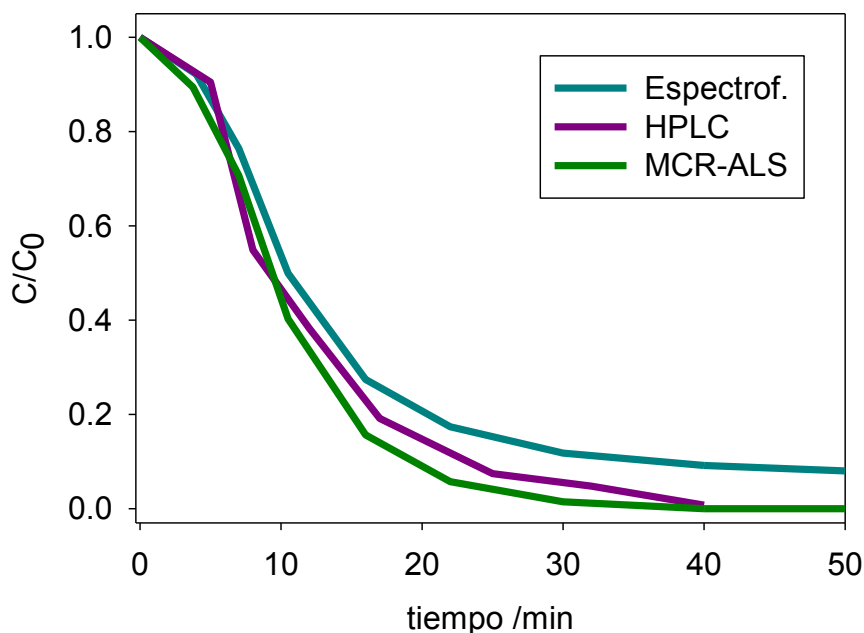


Figura 7.10. Espectros obtenidos por cromatografía, MCR-ALS, y espectrofotometría. $[OG]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$ y $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

Si bien la concordancia entre el perfil MCR y el de HPLC es excelente, el perfil de decoloración a 480 nm (calibración univariada) también muestra una muy buena aproximación al perfil de HPLC. Este resultado sugiere que la contribución a las absorbancias a 480 nm de los intermediarios de degradación del OG no interfiere significativamente con el perfil de decaimiento del colorante. Esto puede correlacionarse directamente con los espectros obtenidos por MCR-ALS (Fig. 7.9), que muestran una contribución espectral muy pequeña de los intermediarios primarios de reacción (Esp 2) en la zona del máximo del OG.

En la figura 7.11 se muestra el efecto de las condiciones de reacción sobre los perfiles de degradación del sustrato estimados por el análisis MCR-ALS de la matriz

expandida correspondiente a la totalidad de los ensayos realizados empleando OG como contaminante individual.

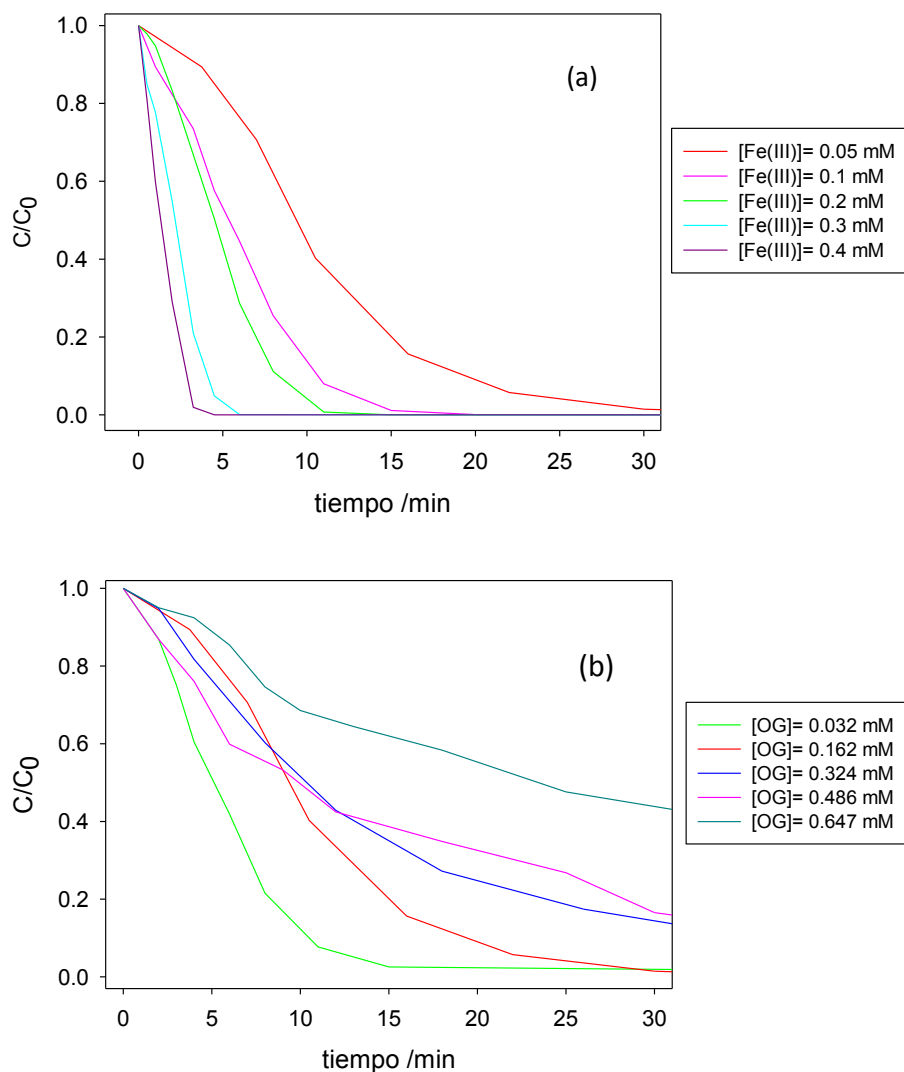


Figura 7.11: Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[OG]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (c) $[OG]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

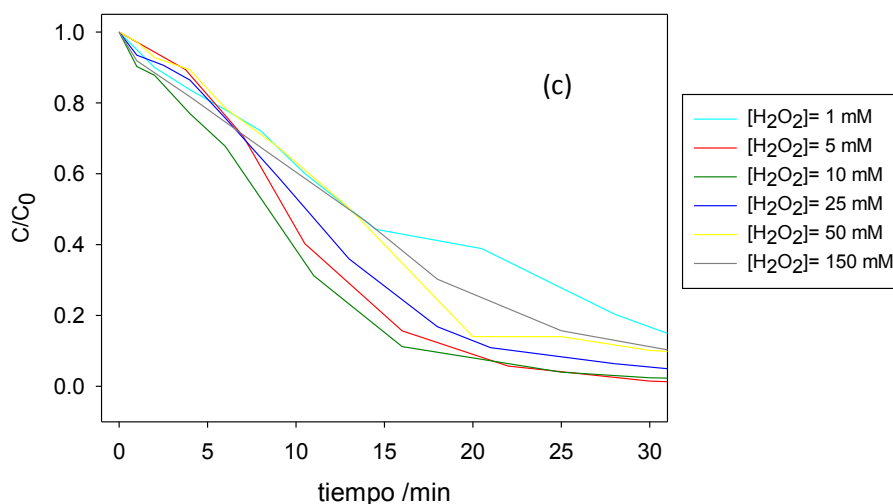


Figura 7.11 (continuación). Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[OG]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (c) $[OG]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

Al igual que en el análisis realizado para el AB, y en línea con el estudio cualitativo realizado en el capítulo 4, se observó que los tiempos de degradación del OG disminuyen con el aumento de la concentración de catalizador, aumentan con la carga orgánica inicial y presentan un valor mínimo para concentraciones iniciales de oxidante cercanas a 10mM.

7.2.2.4 Estudio de complejación y análisis cinético de decoloración de la AR

Estudio de complejación

Previo al análisis de las matrices de espectros correspondientes a las cinéticas de los tratamientos de AR, se aplicó la metodología MCR-ALS para la resolución de los perfiles correspondientes a los equilibrios de complejación entre AR y Fe(III) presentado en el capítulo 3. Los resultados se muestran en la figura 7.12. En el dominio experimental ensayado, se observó la formación de un complejo con estequiometría 1:1 que presenta un máximo de absorción cercano a los 560 nm. Los valores del coeficiente de absortividad molar y de $\log(K)$ obtenidos con este análisis coinciden con los presentados anteriormente (capítulo 3). Además, la resolución del

espectro de absorción del complejo muestra una banda con máximo cercano a 486 nm, indicando que la complejación involucra la forma deprotonada de la AR.

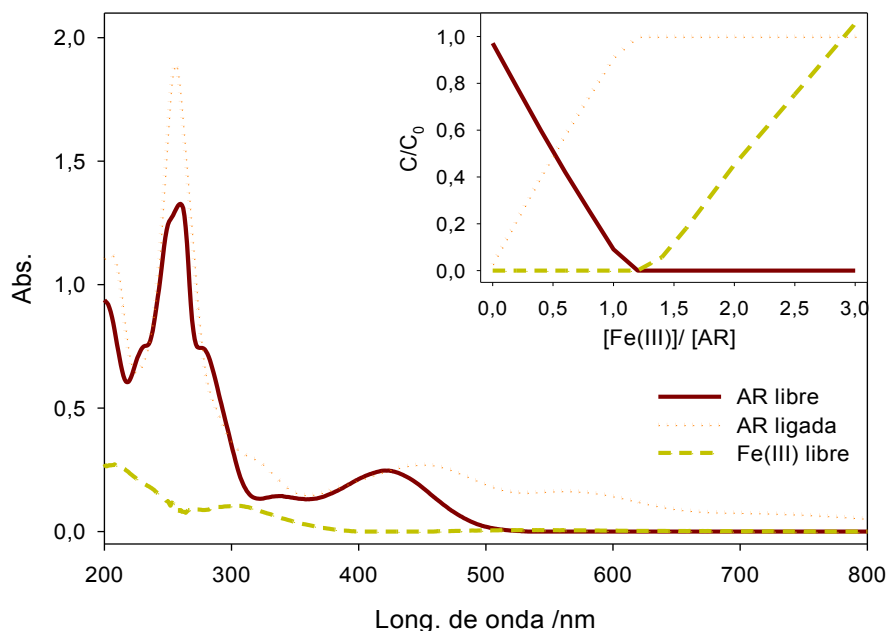


Figura 7.12: Espectros obtenidos por MCR-ALS. Inserciones: perfil de concentraciones para $[Fe(III)]$ variable y $[AR] = 0.25mM$.

Análisis de la degradación de AR

Para la matriz expandida construida a partir de los espectros UV-Vis de todos los tratamientos de AR en forma individual, la mejor descripción se obtuvo con un modelo de 6 contribuciones ($\text{lof} = 7.36\%$ y $R^2 = 99.46\%$). En este modelo, Esp 1 y Esp 2 corresponden a las especies AR y Fe(III)-AR, respectivamente. Las contribuciones Esp 3 y Esp 4 se asocian a intermediarios de la decoloración, la Esp 5 representa a la mezcla de productos de reacción y Esp 6 corresponde al peróxido de hidrogeno. (Figura 7.13).

Los perfiles cinéticos de la figura 7.13 evidencian que, para el ensayo realizado en el punto central del dominio experimental, a tiempos iniciales hay una mayor proporción de complejo AR-Fe(III) que de colorante libre, pero ambos llegan a tener concentraciones despreciables luego de 50 minutos de tratamiento. Por otra parte, el análisis de los perfiles sugiere que la contribución denominada Esp 3, que presenta un máximo cercano a los 30 min, describe a un conjunto de intermediarios formados en

etapas tempranas del tratamiento que presenta una alta proporción de sustancias con la estructura antraquinónica conservada. Por otro lado, la Esp 4 representa al conjunto de especies generadas en escalas de tiempo superiores, caracterizado por una alta proporción de sustancias formadas a través de rutas que comprometieron la integridad de la estructura antraquinónica.

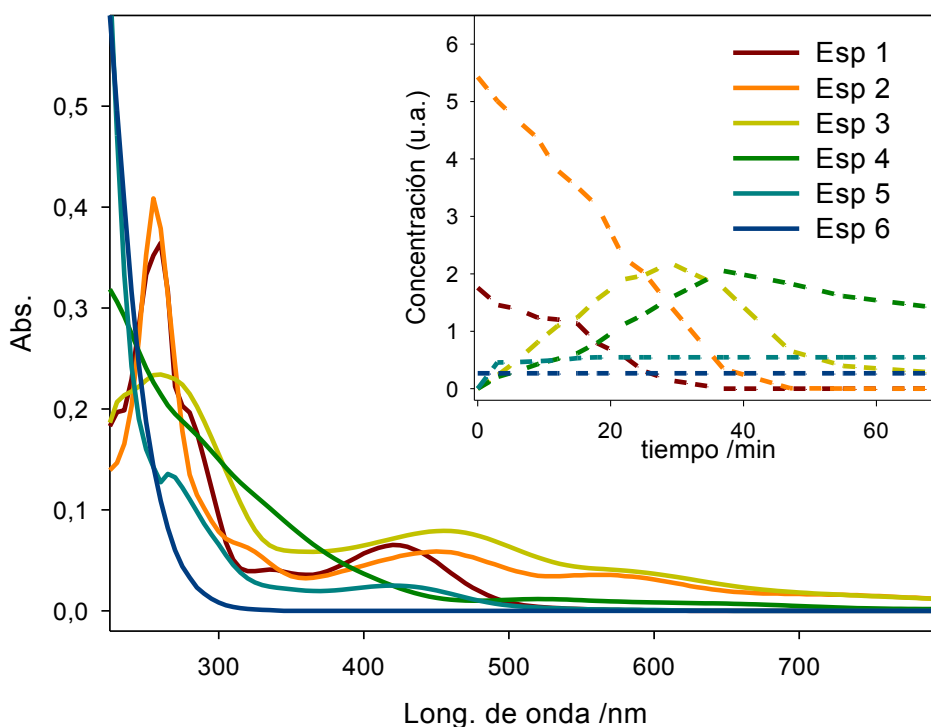


Figura 7.13: Espectros obtenidos por MCR-ALS. Inserciones: perfil de concentraciones para $[AR]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.12\text{mM}$ y $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

Con el objetivo de analizar las cinéticas de decaimiento del colorante tanto en su forma libre como complejo, se calcularon las concentraciones totales del colorante (libre más complejo) en las mezclas de reacción. Dado que, por razones de estabilidad, en el algoritmo MCR-ALS los espectros se normalizan durante el proceso iterativo, los perfiles de concentración resueltos se obtienen en unidades arbitrarias. En consecuencia la concentración total de AR no puede calcularse como la suma de las contribuciones de cada una de las formas arrojadas por el algoritmo MCR-ALS.

Por lo tanto, el cálculo del perfil de concentración total de AR se realizó con la ayuda de los resultados de los estudios de complejación que permitieron determinar el coeficiente de absortividad molar del complejo. Los perfiles de concentración total de ambas formas de AR calculados con este procedimiento para todos los ensayos de tratamiento de AR se muestran en la figura 7.14.

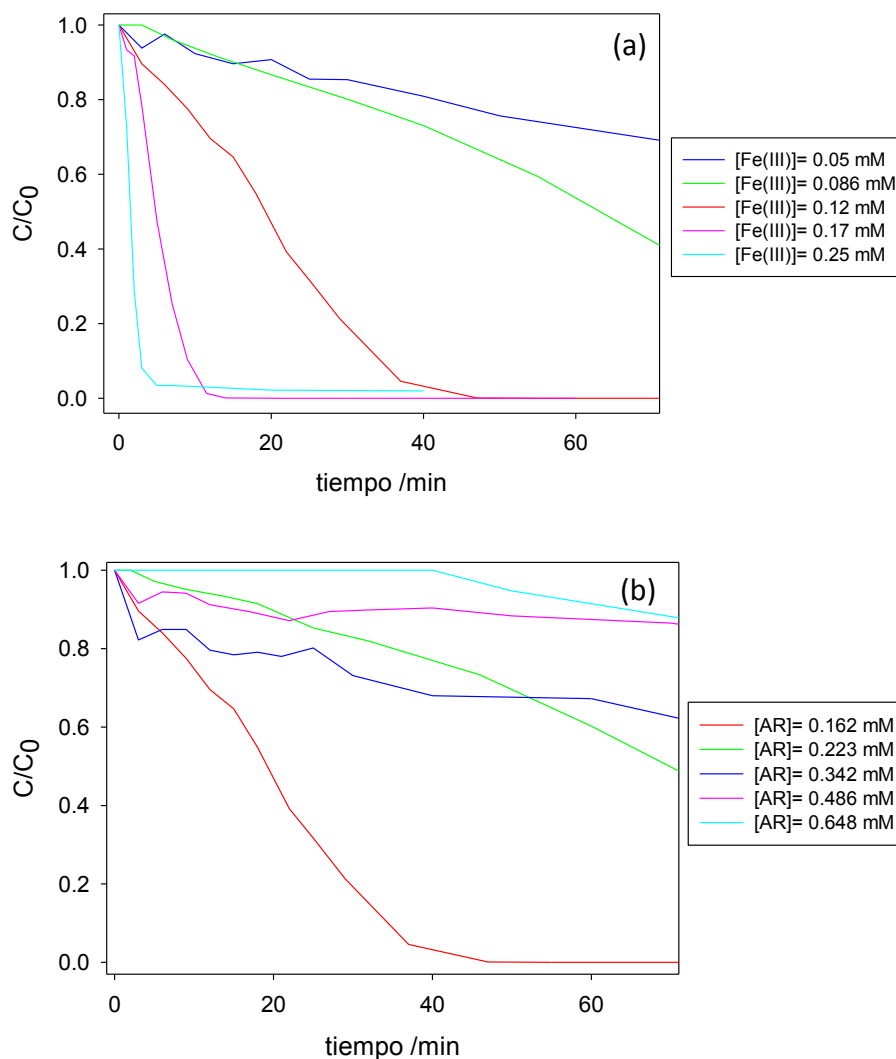


Figura 7.14: Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[AR]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.12 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (c) $[AR]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

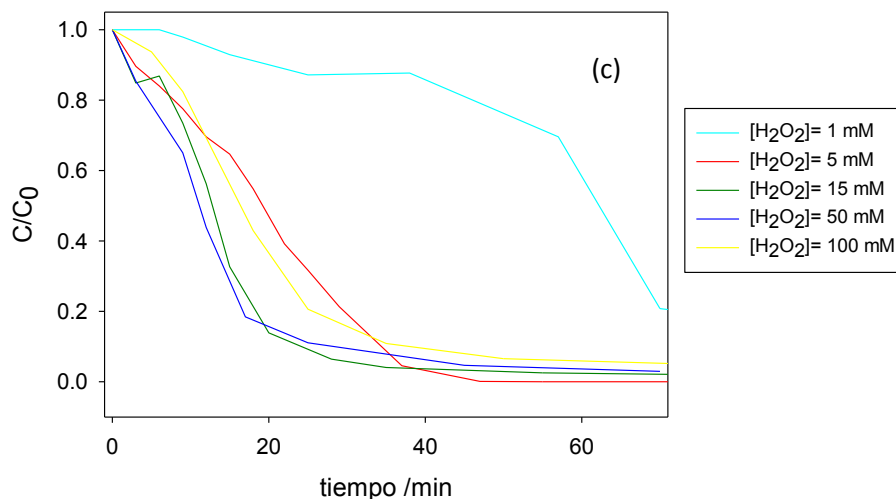


Figura 7.14 (continuación). Perfiles de concentración obtenidos por MCR-ALS. (a) $[AR]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (b) $[Fe(III)] = 0.12 \text{ mM}$, $[H_2O_2]_0 = 5 \text{ mM}$. (c) $[AR]_0 = 0.162 \text{ mM}$, $[Fe(III)] = 0.05 \text{ mM}$.

Puede apreciarse que las tendencias generales son las mismas que las obtenidas para los otros dos colorantes. Sin embargo, el efecto de la concentración del catalizador muestra un comportamiento un poco más complejo ya que para concentraciones de catalizador muy por debajo de la concentración de colorante, las velocidades iniciales de degradación son muy pequeñas y varían muy poco con la concentración de catalizador. Por lo tanto, para obtener tiempos de decoloración comparables con los de los demás contaminantes estudiados son necesarias mayores concentraciones de Fe(III). Este requerimiento es una consecuencia directa de la pérdida sustancial de su actividad catalítica debida a la formación del complejo entre el sustrato y el catalizador.

En la figura 7.15 se comparan los perfiles de concentración obtenidos por cromatografía con las estimaciones realizadas empleando espectrofotometría a 420 nm (calibración univariada) y MCR-ALS. Es importante señalar que la resolución espectral para este sistema presenta mayor complejidad que en los casos anteriores. Esto se debe, por un lado, a la presencia de proporciones variables de complejo y AR libre en las distintas condiciones experimentales y, por otro lado, a que las bandas más intensas tanto de la AR como del complejo se ubican en la región UV del espectro (que presenta menor selectividad que la región visible). A pesar de esta complejidad, puede observarse una aproximación aceptable de la resolución MCR a los perfiles cromatográficos.

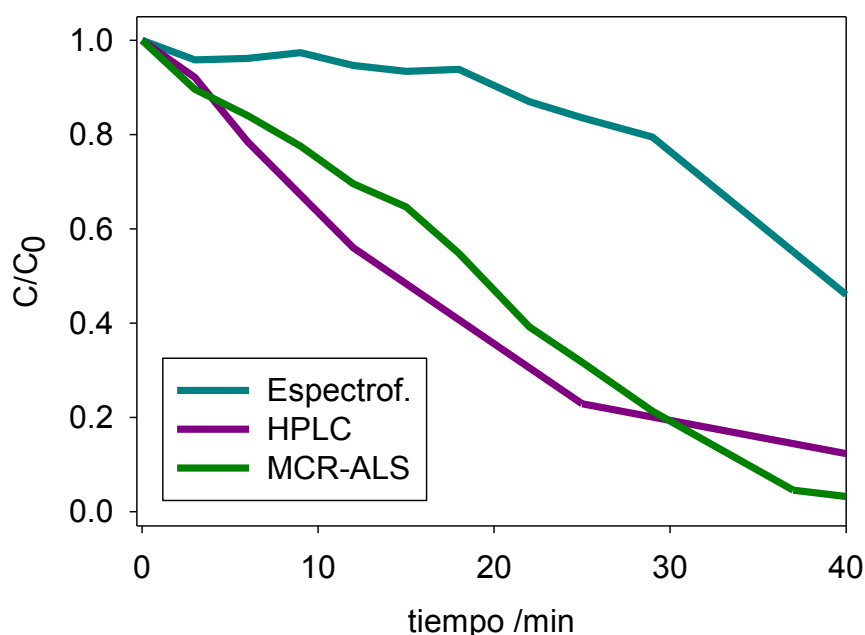


Figura 7.15: Espectros obtenidos por cromatografía, MCR-ALS, y espectrofotometría. $[AR]_0 = 0.162\text{mM}$, $[Fe(III)] = 0.05\text{mM}$ y $[H_2O_2]_0 = 5\text{mM}$.

7.3 Aplicación de MCR-ALS al estudio de mezclas binarias

7.3.1 Metodología

De modo similar al caso de los tratamientos de colorantes en forma individual, para el análisis de las cinéticas de decoloración de mezclas binarias (MB) se preparó una matriz de datos aumentada. Para el análisis de las MB la estrategia de expansión de matrices incluyó, además de la totalidad de los espectros asociados a las cinéticas de las mezclas, las matrices correspondientes a los puntos centrales de los tratamientos de los componentes en forma individual. En consecuencia, las primeras filas de la hipermatriz D generada corresponden a los espectros registrados a diferentes tiempos de las cinéticas de decoloración de los contaminantes individuales (t_i), mientras que las filas siguientes contienen los espectros correspondientes a los tratamientos de las

mezclas en distintas condiciones experimentales (t). Las columnas de D están asociadas a las longitudes de onda comprendidas entre 200 y 800 nm (con intervalos de 5 nm).

Para determinar el número de contribuciones (c) y realizar la estimación inicial de los espectros se emplearon los algoritmos SVD y SIMPLISMA, respectivamente (sección 2.2.2.1 del capítulo 2). Del mismo modo que para los colorantes individuales, se realizó el estudio para $c-1$, c y $c+1$ contribuciones. La determinación del número de contribuciones se realizó teniendo en cuenta la calidad del ajuste del modelo y el sentido fisicoquímico tanto de los espectros como perfiles obtenidos.

Para mezclas binarias la estructura del tratamiento MCR-ALS, de las matrices de datos registrados durante la decoloración, queda representada en la figura 7.16

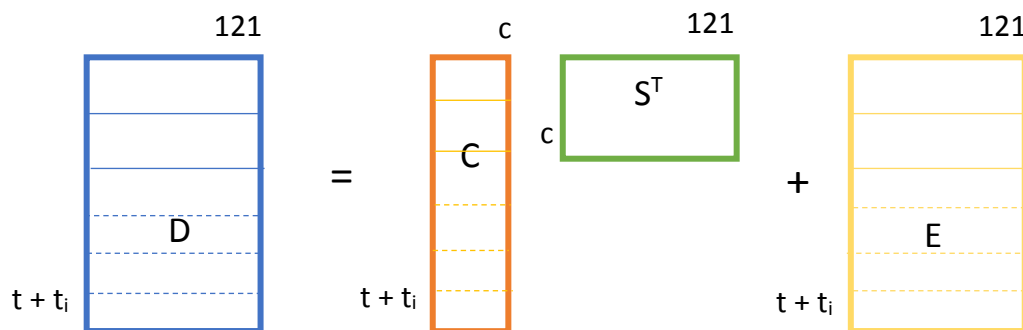


Figura 7.16: Esquema de análisis MCR-ALS para los colorantes individuales.

Las restricciones de no negatividad y unimodalidad fueron utilizadas del mismo modo que para el análisis multivariado de los colorantes individuales. En cambio, la restricción de selectividad no se empleó para forzar las formas espectrales de los reactivos, sino que se utilizó únicamente para anular las contribuciones de intermediarios y productos en los tiempos iniciales de cada ensayo.

7.3.2 Resultados

Los perfiles espectrales obtenidos por la metodología MCR-ALS dependen de la mezcla analizada. A continuación se presentará una breve descripción de los resultados más importantes obtenidos para cada uno de ellos.

7.3.2.1 Perfiles espectrales calculados para la mezcla AB & OG

Para la mezcla AB & OG la mejor descripción del sistema (con una falta de ajuste del 5.1% y un R^2 igual a 99.7%) se obtuvo con un modelo de 5 contribuciones. En la figura 7.17 se representan los espectros asociados a cada una de ellas. Puede observarse que la primera especie corresponde al AB y la segunda al OG, siendo sus contribuciones a la totalidad de la varianza registrada en la hipermatriz de espectros 34.1 y 22%, respectivamente. Las contribuciones Sp3 y Sp4 representan a grupos de intermediarios de la decoloración de las mezclas y la última contribución se vincula a los productos de reacción. Aunque en los sistemas binarios la interpretación de los espectros asociados a los intermediarios resulta más compleja, los perfiles cinéticos (datos no mostrados) sugieren una descripción similar a la presentada para los resultados de degradación de los colorantes en forma individual.

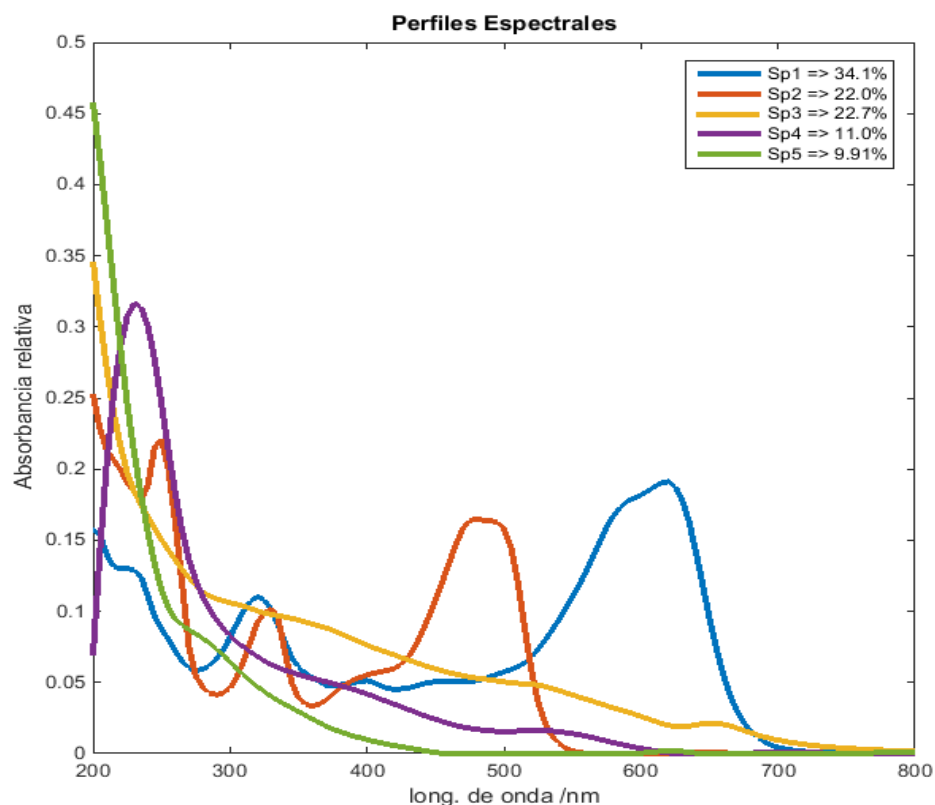


Figura 7.17: Perfiles espectrales de la mezcla AB & OG.

7.3.2.2 Perfiles espectrales calculados para la mezcla AB & AR

Las cinéticas de decoloración de la mezcla AB & AR fueron descriptas, con una falta de ajuste menor a 5.5%, empleando un modelo de 6 contribuciones. De los perfiles espectrales asociados a cada una de las contribuciones (figura 7.18) se deduce que Sp1 corresponde al AB y Sp2 representa, en forma conjunta a las formas tanto libre como complejada, del colorante antraquinónico. La contribución espectral de estas dos contribuciones a la varianza de la hipermatriz analizada es superior al 60%.

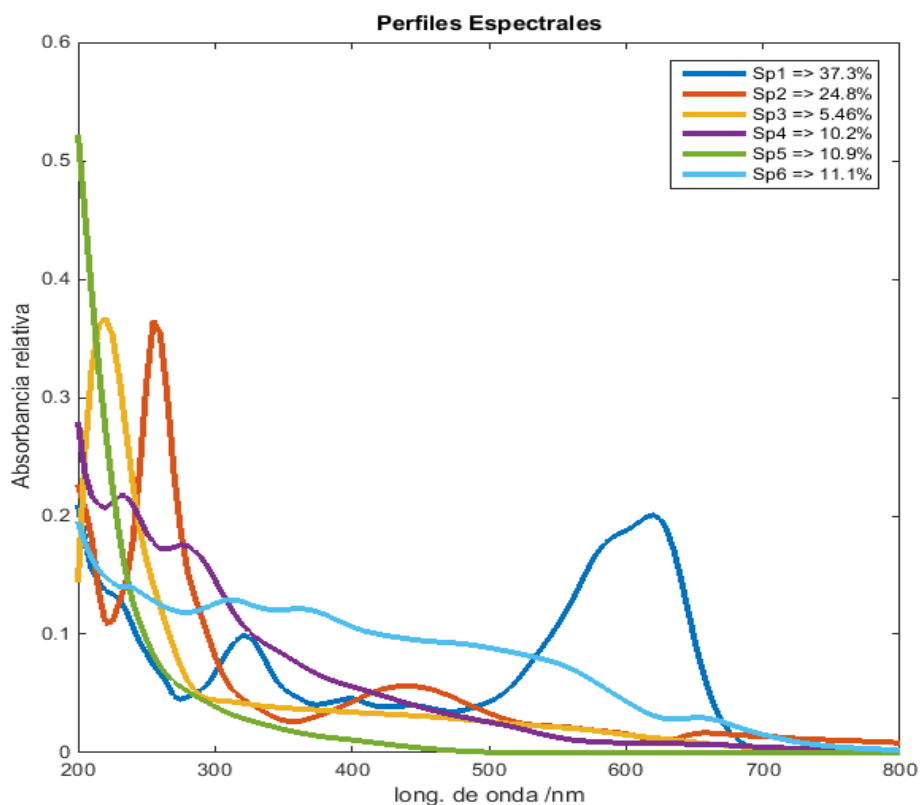


Figura 7.18: Perfiles espectrales de la mezcla AB & AR.

Por otra parte, el estudio MCR-ALS de esta mezcla separa a los productos intermedios de reacción en tres contribuciones Sp6, Sp4 y Sp3 (Figura 7.18) y emplea la contribución Sp 5 para describir las mezclas de reacción en etapas avanzadas de tratamiento.

7.3.2.3 Perfiles espectrales calculados para la mezcla OG & AR

Las cinéticas de decoloración en el sistema OG & AR fueron modeladas con 5 componentes. El análisis MCR-ALS de la hipermatriz conteniendo la totalidad de las corridas experimentales arrojó una falta de ajuste 7.3% con un R^2 de 99.5%. Es importante señalar que la mayor parte de la varianza de los datos no explicada por el modelo corresponde a la región del espectro comprendida entre los 200 y 215 nm. Esta región es la que habitualmente presenta relaciones señal/ruido más pobres y de menor selectividad. El análisis de los espectros presentados en la Figura 7.19 sugiere que, al igual que para la mezcla AB & AR, las especies Sp1 y Sp2 corresponden al OG y al conjunto de las formas de AR libre y complejada, con contribuciones a la varianza total de 27.5% y 34.8%, respectivamente. Por otro lado, las contribuciones Sp3 y Sp4 describen grupos de intermediarios de reacción y la contribución Sp5 a los productos generados en etapas avanzadas del tratamiento.

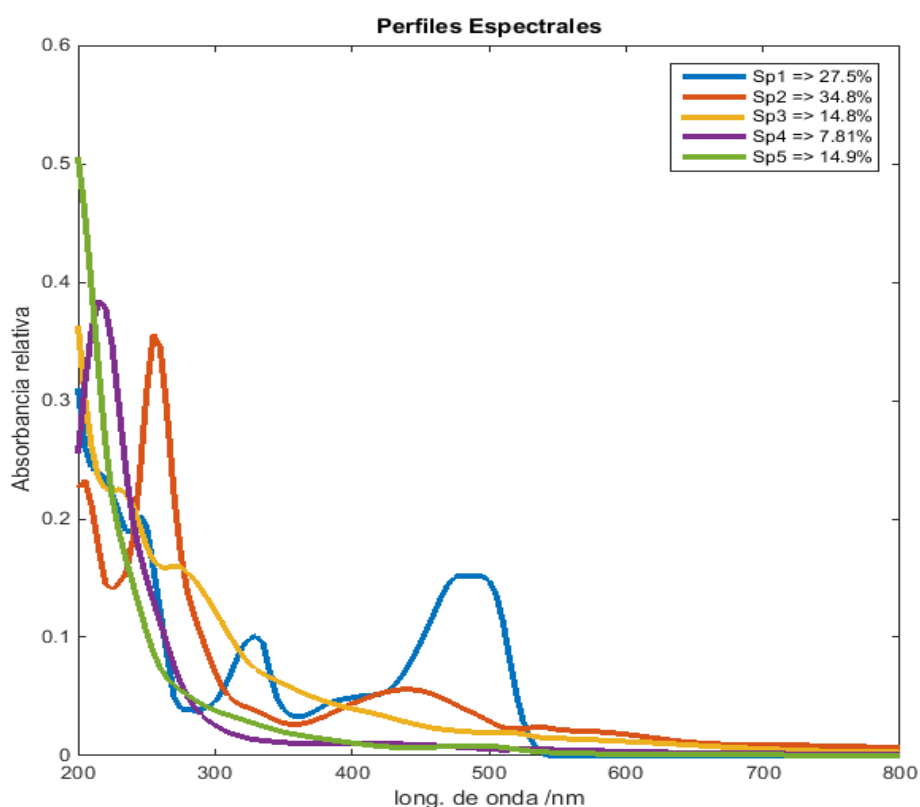


Figura 7.19: Perfiles espectrales de la mezcla AB & AR.

7.3.2.4 Análisis de los perfiles de concentraciones de las mezclas binarias

A modo de ejemplo en la figura 7.20 se muestran los perfiles de concentración obtenidos mediante el análisis MCR-ALS para la totalidad de las cinéticas ensayadas con las mezclas binarias AB & AR.

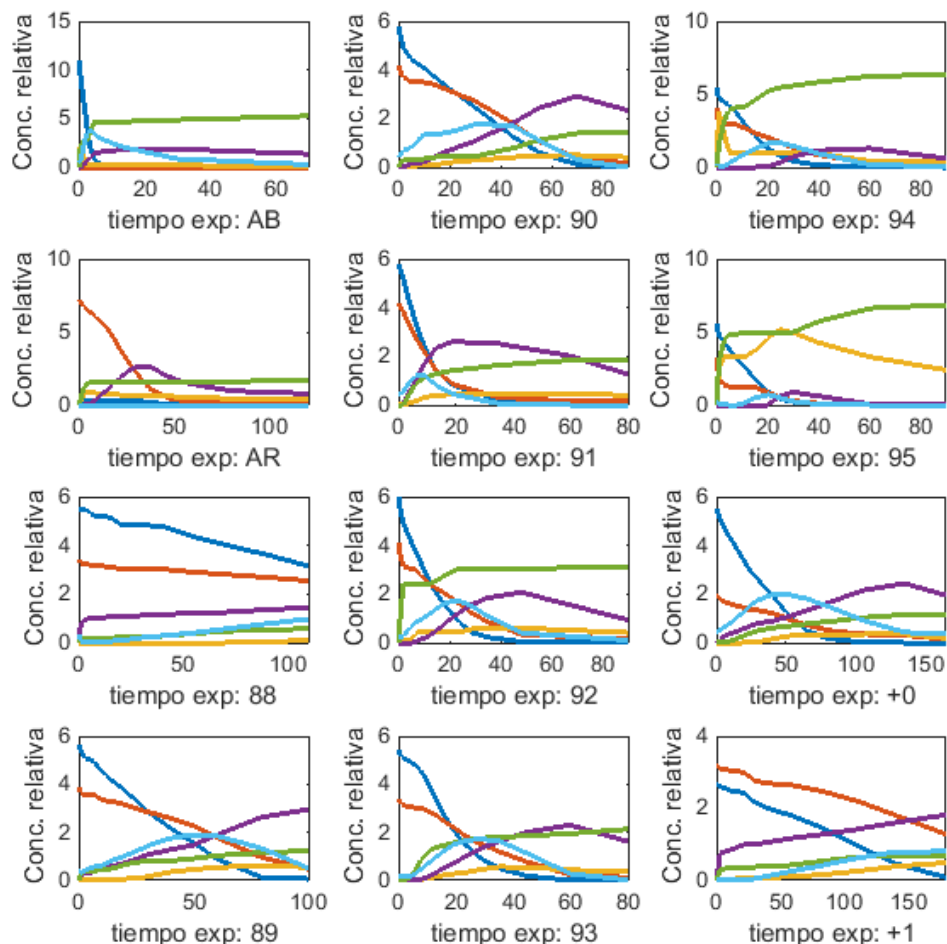


Figura 7.20: Perfiles de concentración calculados por MCR-ALS para las mezclas AB & AR. Las condiciones experimentales se encuentran descritas en el Anexo III.

En concordancia con el estudio cualitativo realizado en el capítulo 5, las estimaciones de los perfiles de concentraciones obtenidos con MCR muestran que para las mezclas binarias los tiempos de degradación disminuyen con la concentración de catalizador y presentan un valor mínimo para la concentración inicial de oxidante cercano a los 25mM. Asimismo, el comportamiento frente a variaciones en la carga inicial de materia orgánica depende de qué sustrato incrementa su concentración en la mezcla. Para las mezclas más ricas en AR, se observa que los tiempos de degradación

se extienden sustancialmente, mientras que frente al agregado de los colorantes azoicos (que no poseen la capacidad de complejar al catalizador) los tiempos de degradación no sufren cambios tan significativos. En la figura 7.21 se muestran los perfiles de concentración obtenidos para los colorantes en mezclas AB & AR de diferentes proporciones.

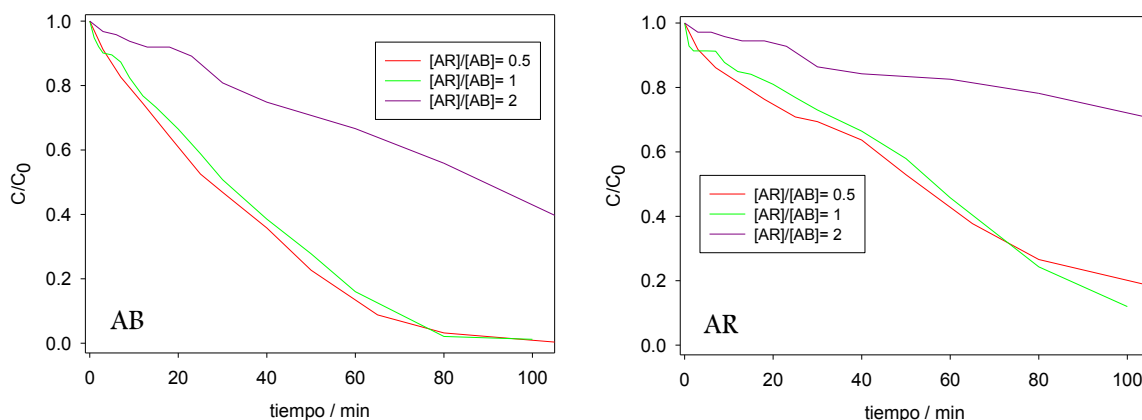


Figura 7.21: Perfiles de concentración para mezclas AB/AR con diferentes relaciones de concentración inicial.

Cabe señalar que para los perfiles de concentración correspondientes a la mezcla binaria OG & AR se ha observado el mismo comportamiento. Por otro lado, para el caso de la mezcla de los colorantes azoicos, tal como se muestra en la figura 7.22, el incremento en el tiempo de degradación es prácticamente independiente del contaminante cuya concentración es incrementada.

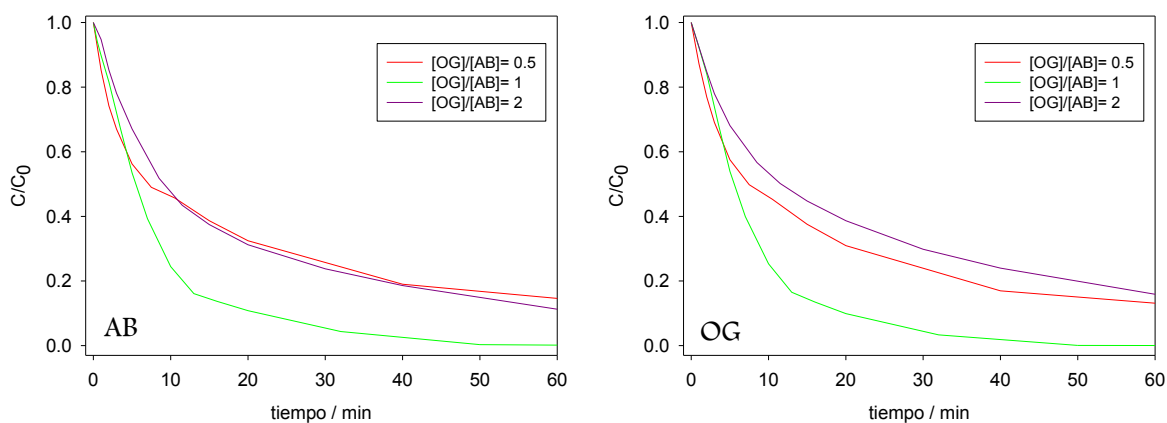


Figura 7.22: Perfiles de concentración para la mezcla OG & AB

7.3.2.5 Comparación entre las estimaciones de los perfiles cinéticos

Los perfiles de concentración estimados, por un lado, a partir de las absorbancias en los máximos de las bandas visibles de los colorantes y, por otro, mediante el modelado con el método MRC-ALS, fueron comparados con los medidos por cromatografía (Figura 7.23).

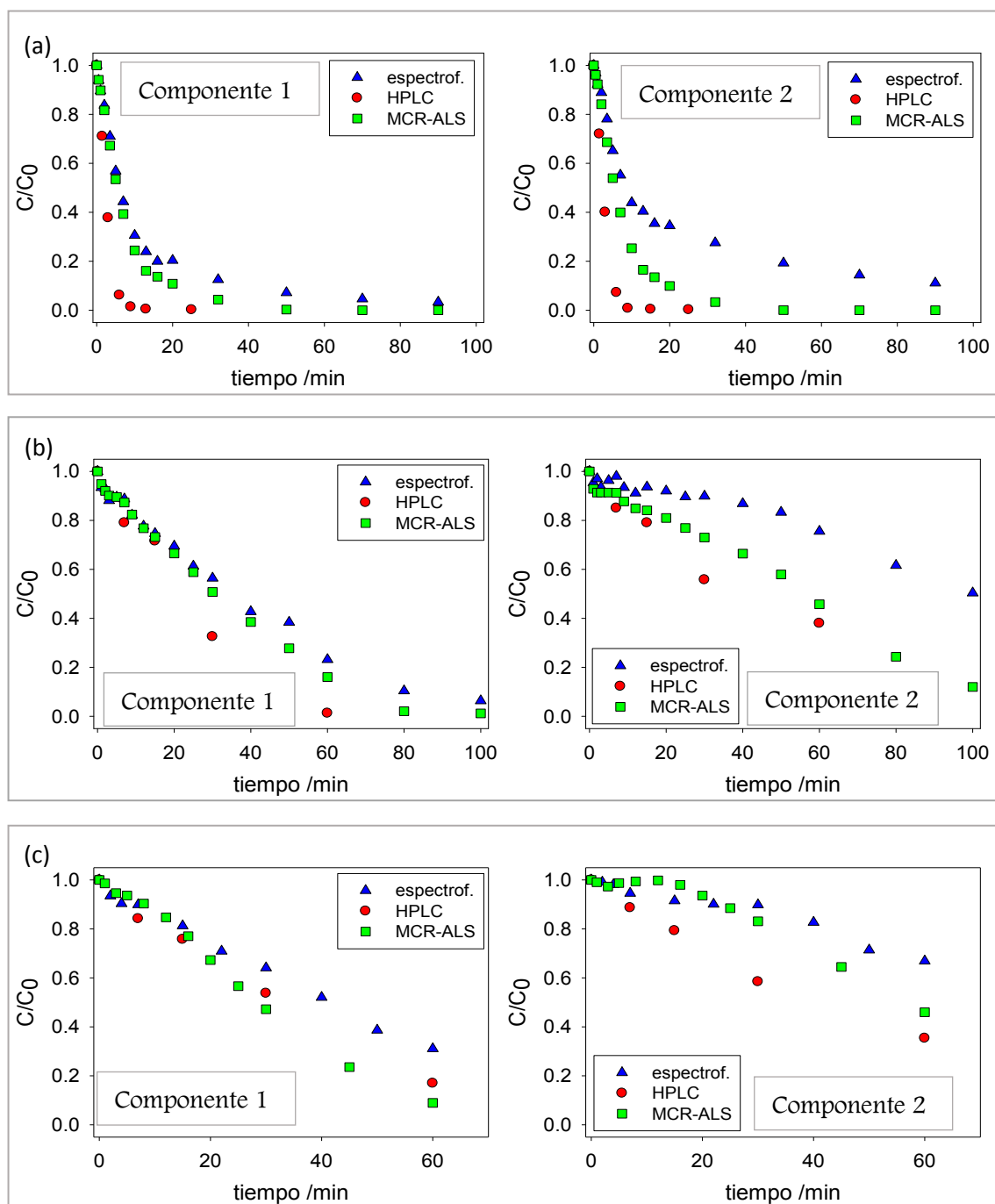


Figura 7.23. Comparación de los perfiles cinéticos medidos por técnicas analíticas y calculado por MCR-ALS para mezclas binarias. (a) AB & OG (b) AB & AR (c) OG & AR

El análisis de las trazas revela que si bien para algunas mezclas se observan diferencias significativas entre los perfiles obtenidos por HPLC y las estimaciones arrojadas por el MCR, la aplicación del análisis multivariado permite, en todos los casos, obtener mejores estimaciones que el análisis univariado. Asimismo, es importante destacar que a pesar de las diferencias entre HPLC y MCR mencionadas, la estimación de los tiempos requeridos para alcanzar grados de conversión de los colorantes superiores al 90% es muy satisfactoria. Por lo tanto, desde un punto de vista práctico, la aplicación de la metodología MCR-ALS presenta un gran potencial como herramienta de bajo costo para el seguimiento de las escalas temporales en las que se alcanza la degradación de los colorantes en las mezclas.

7.4 Aplicación de MCR-ALS al estudio de las mezclas ternarias

7.4.1 Metodología

A fin de disminuir los problemas relacionados con las ambigüedades rotacionales y las deficiencias de rango, para las mezclas ternarias (MT) se utilizó un procedimiento similar al empleado para mezclas binarias.

7.4.2 Resultados

La mejor descripción de la matriz expandida, asociada a las cinéticas de decoloración de las diferentes mezclas ternarias, se obtuvo aplicando un modelo MCR-ALS con 7 componentes. El análisis mostró una falta de ajuste de 5.42%, un valor para R^2 cercano al 99.8% y arrojó los perfiles espectrales que se muestran en la Figura 7.24. Puede observarse que los primeros tres componentes, que explican más del 65% de la información espectral asociada a la totalidad de los ensayos realizados, están asociados a los colorantes de partida. Al igual que para las mezclas binarias que contenían AR, la contribución que representa a este contaminante incluye en una misma entidad tanto

al compuesto antraquinónico libre como a su complejo férrico. En sistemas tan complejos, se acentúan las dificultades para establecer correlaciones entre las contribuciones estimadas por el MCR y las estructuras químicas correspondientes a los intermediarios y/o productos de las mezclas de reacción.

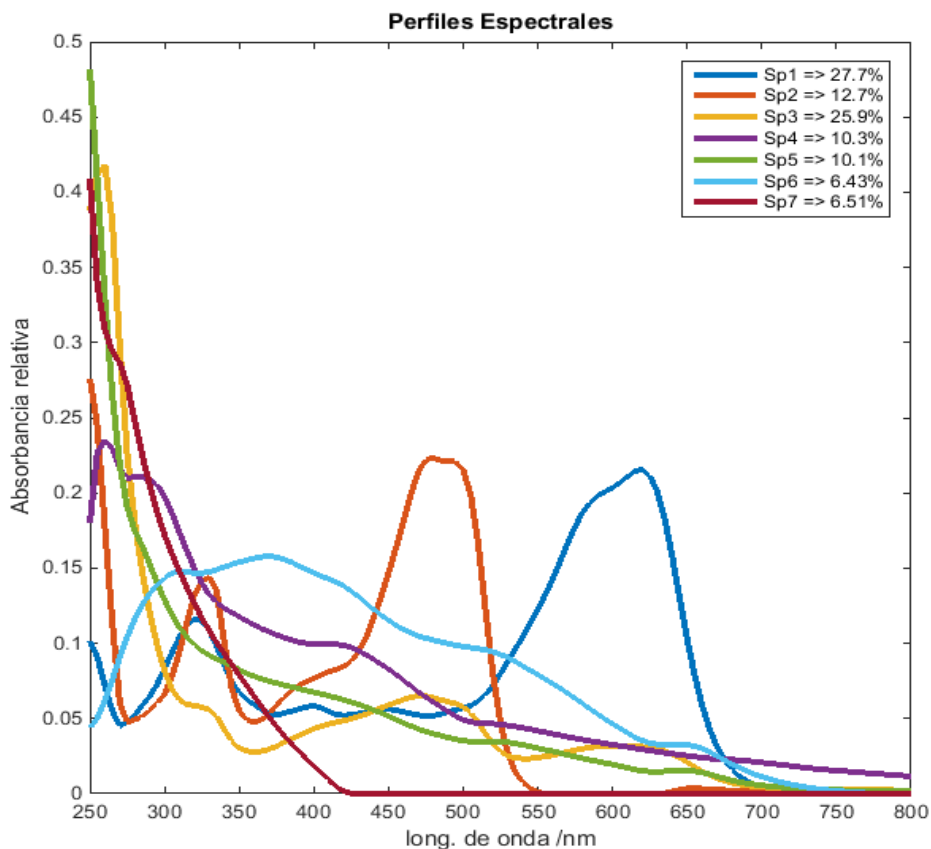


Figura 7.24. Perfiles espectrales de la mezcla ternaria.

En la figura 7.25 se presentan los perfiles de concentración, expresados en unidades arbitrarias, obtenidos para las 7 contribuciones en ensayos de decoloración de las mezclas ternarias realizados en distintas condiciones experimentales.

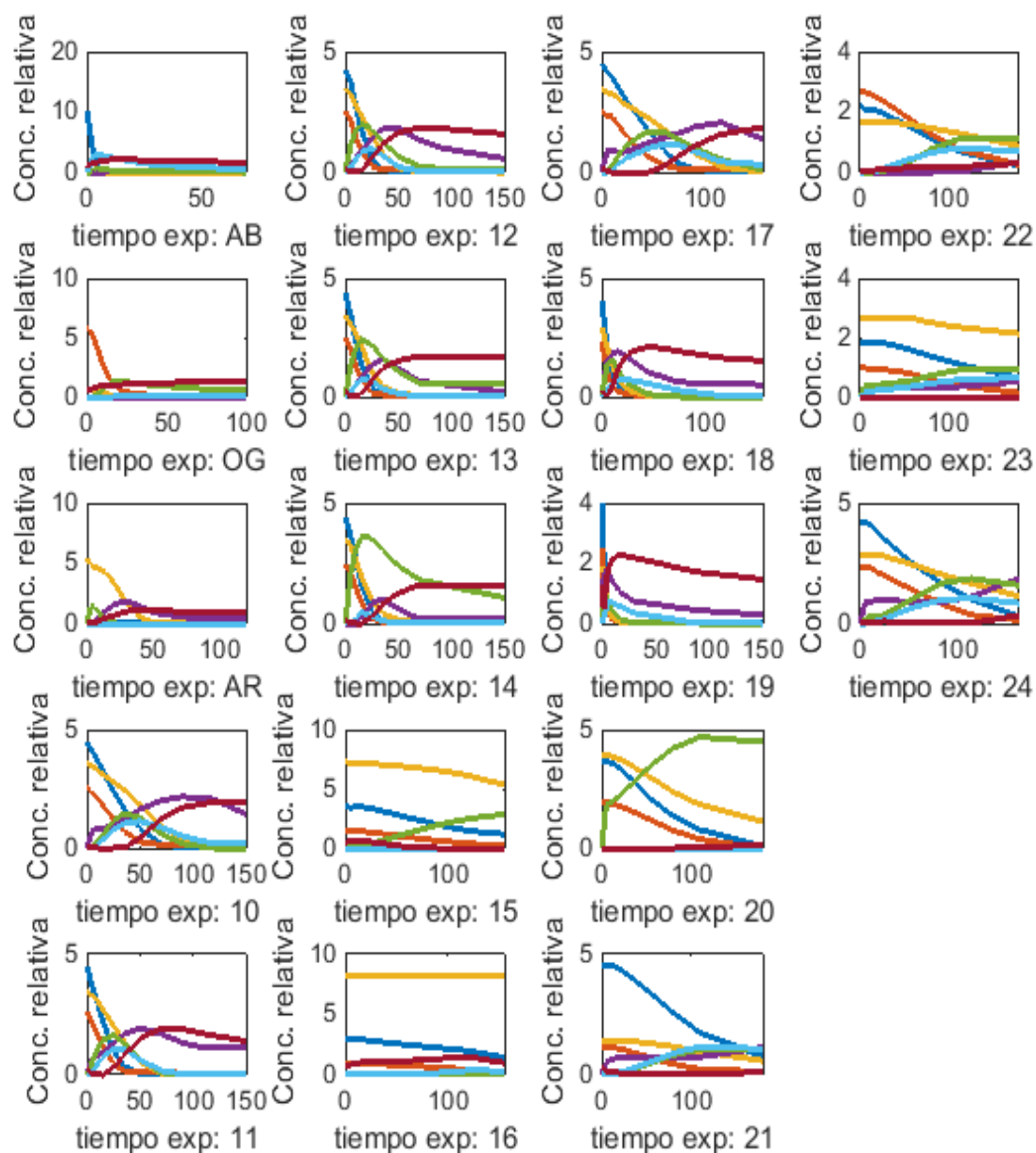


Figura 7.25: Perfiles de concentración calculados por MCR-ALS. Las condiciones experimentales se encuentran descriptas en el Anexo IV.

En línea con los resultados obtenidos en el capítulo 5, los perfiles de concentración estimados por el método MCR-ALS (Figura 7.25) revelan que los tiempos de degradación disminuyen con el incremento de la concentración de catalizador, y presentan un valor óptimo para concentraciones de oxidantes cercanas a 50 mM. Por otra parte, al aumentar de la carga de materia orgánica, los tiempos de degradación se incrementan, siendo este efecto más marcado para altas concentraciones iniciales de AR.

7.4.3 Comparación de los perfiles cinéticos

La figura 7.26 muestra la calidad de las estimaciones de los perfiles de concentración de la mezcla triple mediante calibración univariada y multivariada.

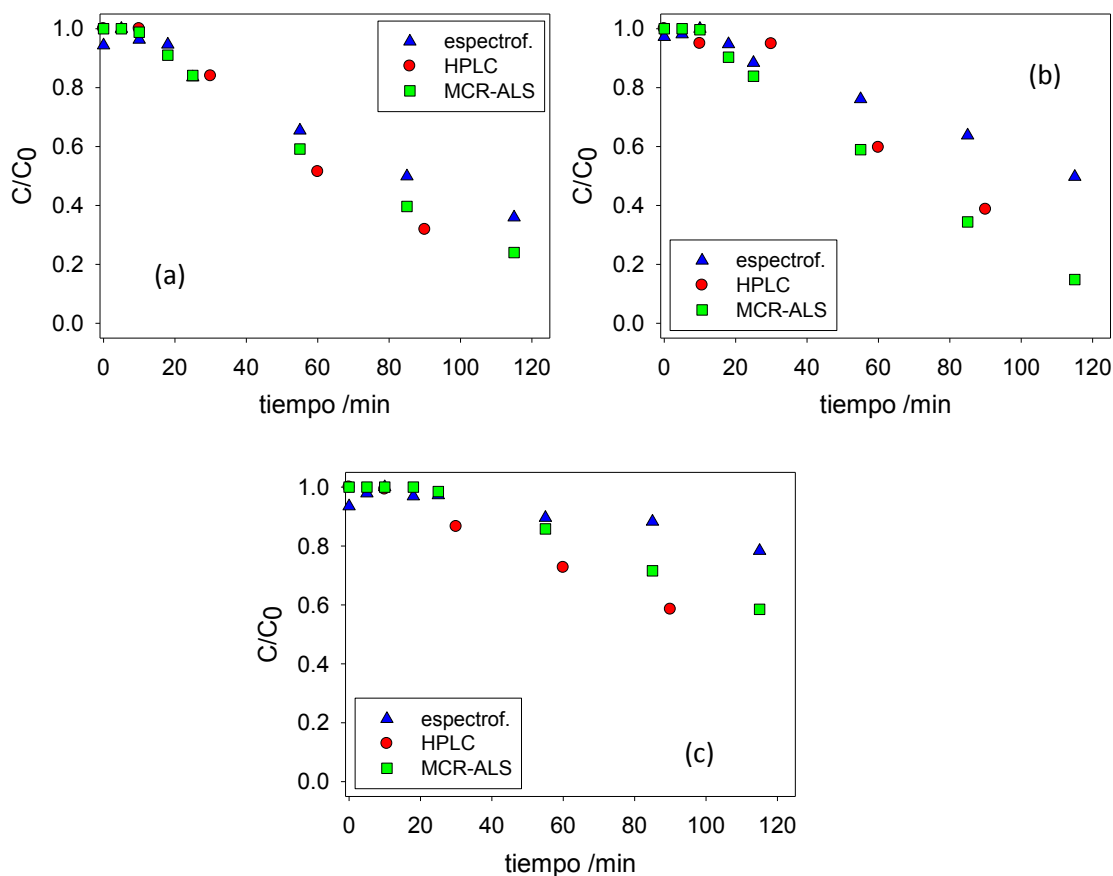


Figura 7.26: Comparación de los perfiles cinéticos medidos por técnicas analíticas y calculado por MCR-ALS para la mezcla ternaria correspondiente al centro del dominio experimental estudiado.
(a) Perfiles de AB, (b) Perfiles de OG, (c) Perfiles de AR.

Los resultados muestran que, aun para sistemas tan complejos como las mezclas ternarias de los colorantes estudiados, la aproximación obtenida con algoritmo MCR-ALS es muy satisfactoria y permite predecir adecuadamente el comportamiento cinético individual de cada uno de los colorantes en la mezcla ternaria.

7.5 Conclusiones

El desarrollo e implementación, en el marco del presente trabajo de tesis, de nuevas restricciones para el algoritmo MCR-ALS permitió un análisis más robusto de las hipermatrices asociadas a los ensayos de decoloración.

El análisis de las cinéticas de decoloración con el algoritmo “modificado” ha permitido determinar el comportamiento cinético y revelar algunos aspectos mecanísticos asociados a los sistemas en estudio frente a variaciones controladas de las condiciones iniciales de reacción.

Los perfiles de degradación estimados a partir del análisis multivariado para diferentes condiciones experimentales revelaron tendencias muy similares a las observadas en los capítulos 4 y 5. Brevemente, los tiempos de degradación disminuyen con un aumento de la concentración de catalizador, presentan un valor mínimo para su dependencia con la concentración inicial de oxidante y se incrementan con el agregado de materia orgánica. Este último efecto es más marcado en mezclas con altas cargas de AR, debido a su capacidad para inactivar al catalizador.

El análisis de los tratamientos de los colorantes azoicos individuales mediante esta metodología permitió obtener las escalas de evolución temporal para grupos de intermediarios cuyas contribuciones espectrales pueden correlacionarse con diferentes niveles de degradación de los cromóforos presentes en los colorantes de partida.

La aplicación del algoritmo al estudio de la complejación entre AR y el catalizador arrojó resultados coincidentes con los presentados en el Capítulo 3, pero además mostró que el complejo involucra la forma deprotonada de AR. Por otro lado, el análisis realizado empleando las nuevas restricciones, sobre la hipermatriz asociada a los tratamientos de AR en forma individual, permitió deconvolucionar las contribuciones tanto del colorante antraquinónico libre como del complejo Fe(III)-AR.

Los perfiles de degradación estimados con la metodología MCR-ALS modificada resultaron muy satisfactorios ya que presentaron altos grados de similitud con los perfiles medidos por HPLC, incluso para el análisis de las mezclas de colorantes. Esto representa una herramienta de enorme potencial para el monitoreo on-line de procesos de tratamiento. Además, debido a su bajo costo, facilidad de implementación y velocidad resolución, esta metodología podría aplicarse para el control y automatización de sistemas de tratamiento de efluentes.

7.6 Bibliografía

1. Wang, N., Zheng, T., Zhang, G. & Wang, P. A review on Fenton-like processes for organic wastewater treatment. *J. Environ. Chem. Eng.* **4**, 762–787 (2016).
2. Fernández, C., Larrechi, M. S. & Callao, M. P. Study of the influential factors in the simultaneous photocatalytic degradation process of three textile dyes. *Talanta* **79**, 1292–1297 (2009).
3. Tauler, R. Multivariate curve resolution applied to second order data. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **30**, 133–146 (1995).
4. Fernández, C., Pilar Callao, M. & Soledad Larrechi, M. UV–visible–DAD and ¹H–NMR spectroscopy data fusion for studying the photodegradation process of azo–dyes using MCR–ALS. *Talanta* **117**, 75–80 (2013).
5. Fernández, C., Callao, M. P. & Larrechi, M. S. Kinetic analysis of C.I. Acid Yellow 9 photooxidative decolorization by UV–visible and chemometrics. *J. Hazard. Mater.* **190**, 986–992 (2011).
6. Press, W. H. & Teukolsky, S. A. Savitzky–Golay Smoothing Filters. *Comput. Phys.* **4**(6), 669–672 (1990).



CAPÍTULO 8

ANÁLISIS DE FACTORES PARALELOS

8.1 Introducción

En la Parte I de este trabajo de tesis se realizó un seguimiento de las cinéticas correspondientes a los puntos centrales del mapeo experimental, por medio del análisis de las matrices de Emisión-Excitación (EEM), tanto para los colorantes individuales como para la mezcla ternaria. En este capítulo se realizará un tratamiento de estas EEM aplicando la metodología del análisis de factores en paralelo (PARAFAC).

A partir de las EEM se construyeron tensores cuyas dimensiones están asociadas a las muestras (I), las longitudes de onda de emisión (J) y las longitudes de onda de excitación (K). El modelo PARAFAC permite deconvolucionar este tensor de datos en tres matrices A (I x F), B (J x F) y C (K x F) conteniendo información relacionada con la evolución temporal y las características espectrofluorimétricas de los F factores empleados en la descomposición trilineal. En este contexto, las matrices A, B y C contienen los perfiles de concentración relativos, los espectros de emisión y los espectros de excitación correspondientes a los factores que contribuyen a la luminiscencia de las soluciones analizadas.^[1]

8.2 Metodología

8.2.1 Pretratamiento de las EEM

Tal como se explicó en el Capítulo 1, el modelo PARAFAC se basa en la descomposición trilineal de las intensidades de emisión registradas en las EEM para diferentes muestras. Por lo tanto, antes de aplicar el algoritmo es necesario realizar un pre-procesamiento de los datos para eliminar contribuciones no lineales en las señales registradas. En este trabajo de Tesis se aplicaron las siguientes etapas de pretratamiento: ^[2-4]

- i) Corrección de los efectos de filtro interno primario y secundario empleando la ecuación: $I_{\text{Corr}} = I_{\text{Obs}} \times 10^{(\text{Abs}_{\text{Em}} + \text{Abs}_{\text{Ex}})/2}$, en la que I_{Corr} es la intensidad de emisión corregida, I_{Obs} es la intensidad de emisión registrada, Abs_{Em} corresponde a la absorbancia de la muestra a la longitud de onda de emisión (causa del efecto de

filtro interno primario) y Abs_{Ex} corresponde la absorbancia de la muestra a la longitud de onda de excitación (causa del efecto de filtro interno secundario, también denominado autoapagamiento)

ii) Corrección por el blanco a partir de la sustracción de la matriz correspondiente a las emisiones del solvente puro

iii) Eliminación de las regiones de las EEM gobernadas por efectos de dispersión de la radiación tanto de tipo elástico (Rayleigh) como inelástico (Raman). Dado que los fenómenos de dispersión no pueden ser modelados empleando ecuaciones lineales, las regiones o “calles” correspondientes deben ser o bien eliminadas del conjunto de datos o bien “corregidas”. Para los casos en los que las calles de dispersión son eliminadas, el algoritmo PARAFAC permite manejar arreglos de 3 vías con elementos faltantes (que en el entorno de Matlab se indican como *NaN*, Not a Number). Por otro lado, en muchas situaciones, para acelerar la convergencia del algoritmo, los elementos del arreglo de 3 vías ubicados en las posiciones correspondientes a las “calles” de dispersión son reemplazados por valores calculados mediante interpolación cúbica segmentaria empleando datos de las regiones adyacentes a las “calles” de dispersión^[3,5,6]

En las figuras 8.1 y 8.2 se muestran esquemáticamente los efectos de los diferentes pasos de pre-tratamiento.

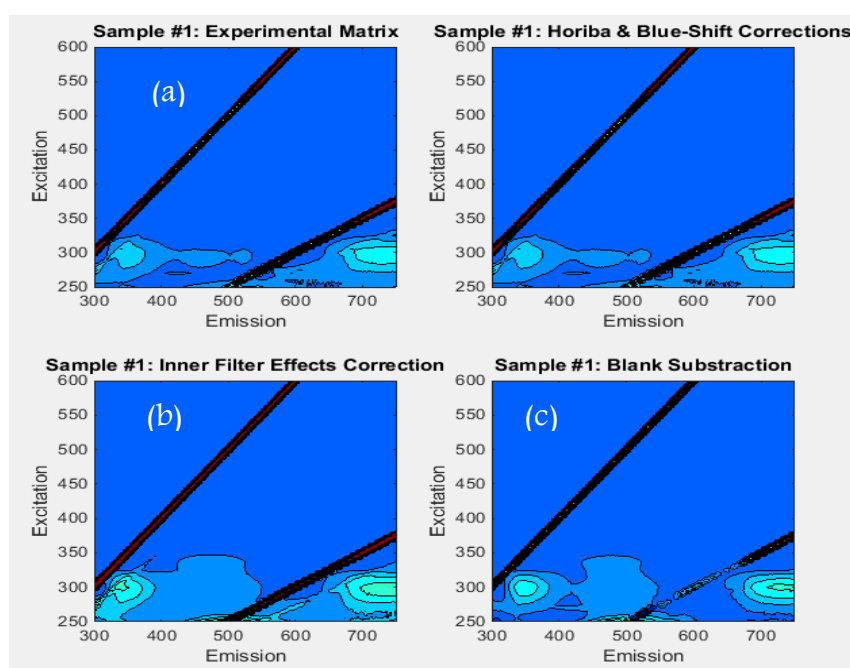


Figura 8.1: (a) EEM sin correcciones. (b) correccion por absorbancia (c) correccion por blanco

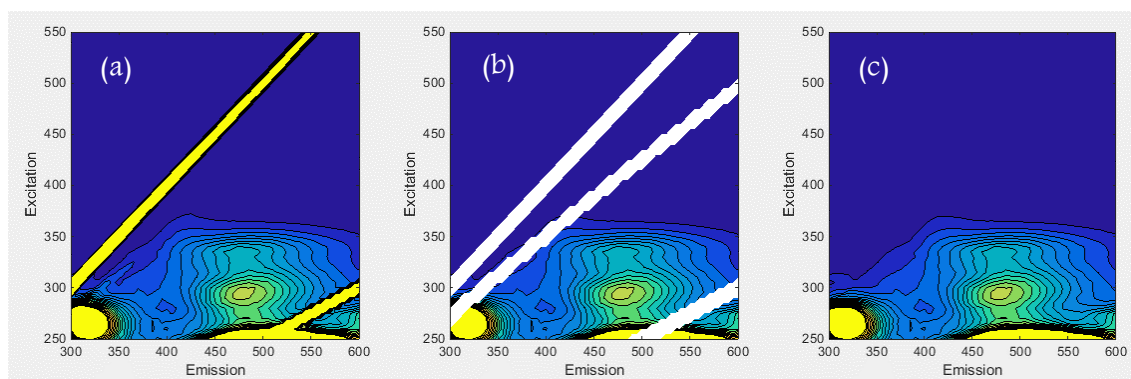


Figura 8.2:(a) EEM con correcciones por absorbancia y blanco. (b) eliminación de las dispersiones de Rayleigh y Raman. (c) simulación de las regiones suprimidas.

Luego de la aplicación de estas etapas de pretratamiento se obtuvieron matrices apropiadas para la descomposición trilineal mediante el algoritmo PARAFAC.

8.2.2 Estimaciones iniciales y aplicación del algoritmo

De forma similar al caso del algoritmo MCR-ALS, el desempeño del método PARAFAC puede depender considerablemente de las estimaciones iniciales. Por lo tanto, para acelerar la convergencia del proceso, se construyeron descomposiciones alternativas partiendo de diferentes estimaciones iniciales o “semillas”. Posteriormente, se realizaron optimizaciones parciales de cada una de ellas mediante un número predeterminado de iteraciones para obtener diferentes modelos preliminares. Entre los métodos para obtener las semillas iniciales pueden considerarse la descomposición en valores singulares (SVD)^[7], la descomposición trilineal directa/método de aniquilación de rango generalizado (DTLD/GRAM) y el ajuste usando valores ortogonalizados aleatorios. Finalizadas las optimizaciones parciales, se analizaron los ajustes producidos para cada uno de los modelos preliminares y se seleccionó aquel con mejor calidad de ajuste como punto de partida para iniciar el proceso iterativo final hasta alcanzar la convergencia.^[1,6] El criterio de convergencia utilizado fue que el cambio relativo del ajuste fuera menor o igual 10^{-6} . Cabe aclarar que todos los sistemas analizados en este trabajo de Tesis alcanzaron la convergencia en menos de 750 iteraciones.

De forma similar al método MCR-ALS, el desarrollo de un modelo PARAFAC óptimo para cada sistema se realiza corriendo el algoritmo sobre el mismo conjunto de datos pero considerando diferente número de factores. Para la selección de la cantidad correcta de factores capaces de describir adecuadamente cada uno de los sistemas estudiados se planteó una relación de compromiso entre la calidad de los ajustes obtenidos y el significado físico de los espectros resultantes de la descomposición. Generalmente se observa que el empleo de un número insuficiente de factores para la descomposición conduce a ajustes relativamente pobres, en estos casos, se considera que el modelo está sub-parametrizado. Por otra parte, el empleo de un número excesivo de factores conduce a buenos ajustes pero con perfiles espectrales con altos grados de acoplamiento y en muchos casos carentes de sentido físico, en estos casos se considera que el modelo está sobre-parametrizado.

En el presente trabajo de Tesis, durante el proceso iterativo del algoritmo PARAFAC, se emplearon como restricciones la no negatividad y la unimodalidad tanto para los perfiles de concentración relativa como para los espectros de emisión. Dado que los fluoróforos presentes en las mezclas de reacción pueden presentar múltiples bandas de excitación, sólo se empleó la restricción de no negatividad para los espectros de excitación. A continuación se detallan los resultados obtenidos al utilizar esta metodología sobre las EEM obtenidas durante la decoloración de los contaminantes estudiados.

8.3 Resultados

8.3.1. PARAFAC en la decoloración del AB

A pesar de que las EEM se registraron en rangos de excitación comprendidos entre 250 y 600 nm (con intervalos de 5 nm) y de emisión comprendidos entre de 300 y 750 nm (con intervalos de 2 nm), con el fin de minimizar la influencia sobre los resultados del PARAFAC de fenómenos dispersivos y de regiones con pobres relaciones señal/ruido, se acoto el rango de análisis a longitudes de onda entre 300 y 600 nm y entre 326 y 600 nm, para los modos excitación y emisión respectivamente.

Si bien el análisis de las EEM correspondientes a la decoloración del AB se realizó utilizando entre 4 y 8 factores, el resultado óptimo se obtuvo cuando se aplicó un modelo PARAFAC de 5 factores (con una falta de ajuste menor al 5.5%). Los espectros de excitación y de emisión arrojados por este análisis pueden observarse en la figura 8.3.

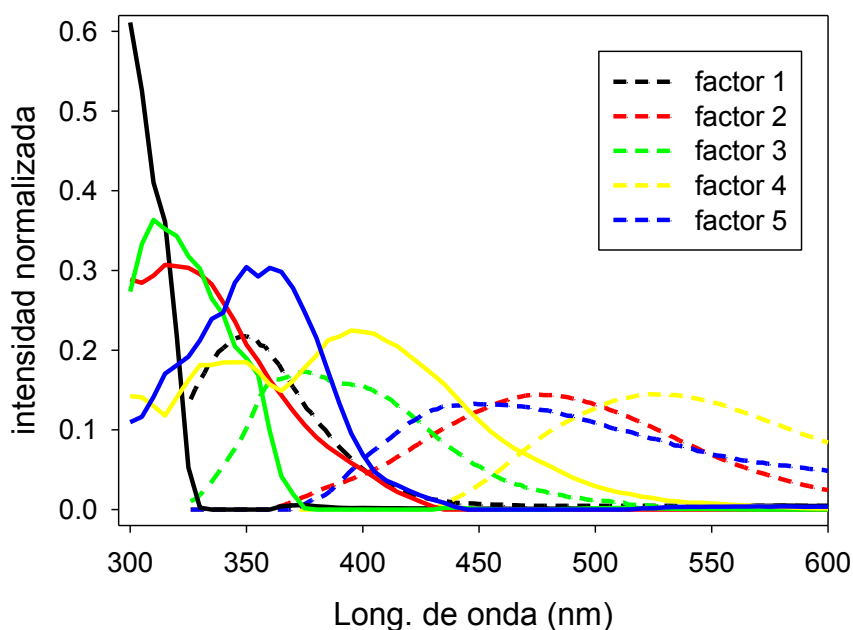


Figura 8.3. Espectros de excitación (línea sólida) y de emisión (línea punteada) predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del AB.

Las regiones de las EEM asociadas a cada uno de los factores del modelo fueron reconstruidas a partir de sus perfiles de excitación y emisión (figura 8.4), mientras que las contribuciones relativas de cada factor para cada una de las muestras se calcularon empleando las cuentas totales asociadas a cada factor en la región espectral examinada.

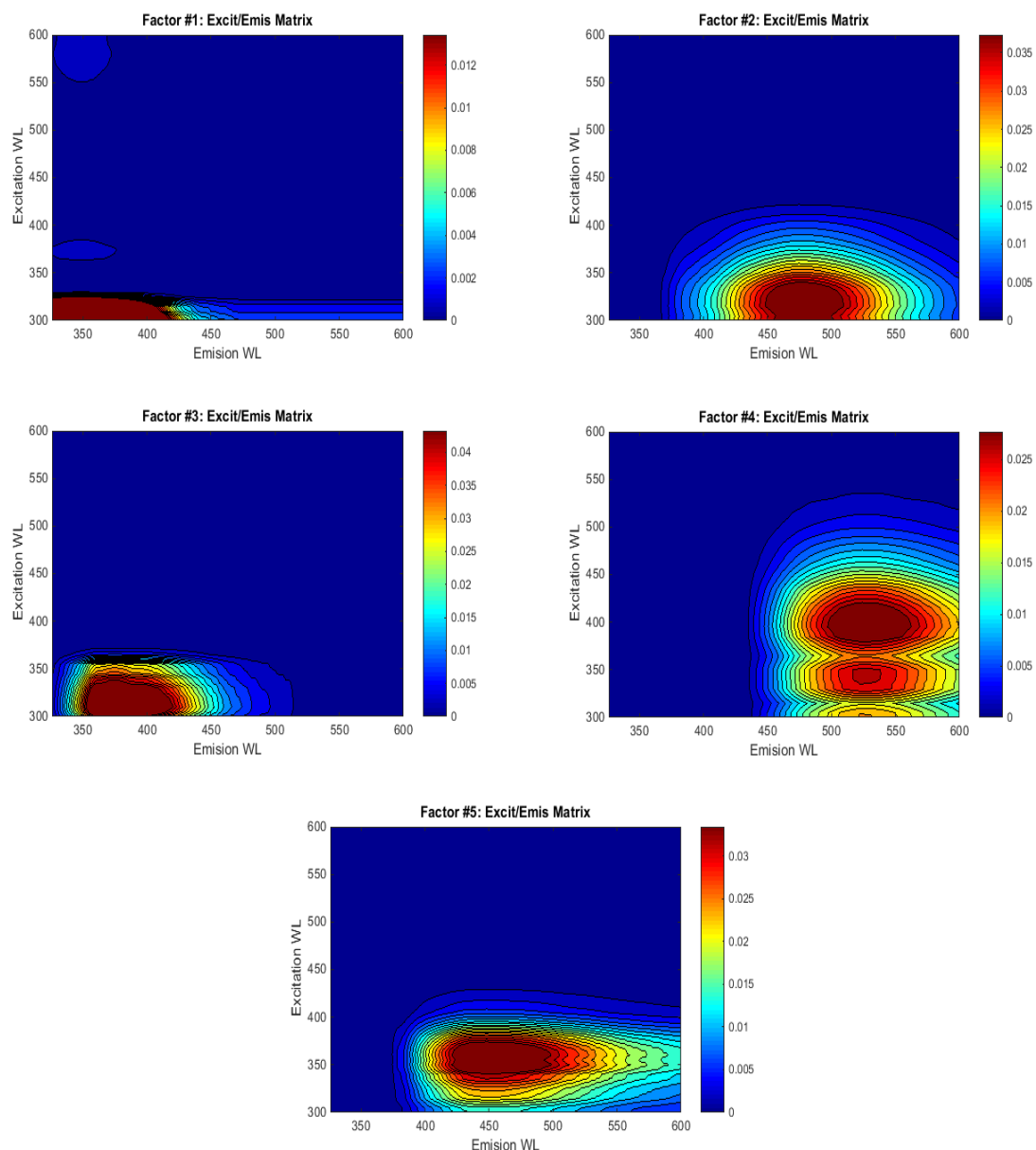


Figura 8.4: EEM de los factores estimados por PARAFAC para la cinética de degradación del AB.

En las figuras 8.5a y 8.5b se presentan los perfiles de concentración de los diferentes factores en función del tiempo de tratamiento y del porcentaje de decoloración para cada uno de los factores, respectivamente.

A partir de las representaciones de las EEM, presentadas en la sección 4.4.3.4 del capítulo 4, y de los resultados obtenidos mediante el algoritmo PARAFAC, puede correlacionarse al factor F1 directamente con AB, el cual decrece rápidamente junto con la decoloración (figura 8.5b). El resto de los factores demuestra la presencia de

intermediarios fluorescentes, cuya contribución a la absorción en la región visible del espectro es muy pequeña y no puede ser evidenciada por espectroscopía de absorción.

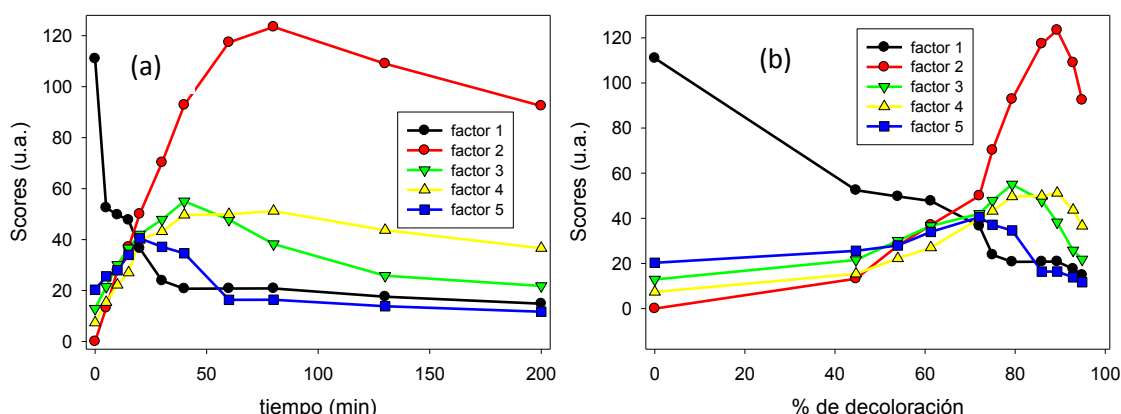


Figura 8.5. Perfiles de concentración (a) en función del tiempo (b) en función del grado de decoloración de los factores predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del AB.

La comparación de los perfiles de la figura 8.5 muestra que la contribución correspondiente al factor F2 crece significativamente y llega a una intensidad máxima a los 80 minutos aproximadamente. El comportamiento cinético y las características espectrofluorimétricas de este factor corresponden a la denominada región B del análisis cualitativo presentado en el capítulo 4. Por otro lado a tiempos cercanos a 20 y 40 minutos de iniciada la reacción, los factores F5 y F3 muestran, respectivamente, sus máximas contribuciones. Finalmente el factor F4, de modo similar al factor F2, presenta sus máximas emisiones para tiempos cercanos a los 80 minutos de tratamiento, que corresponden porcentajes de decoloración cercanos al 85%.

8.3.2 PARAFAC en la decoloración del OG

Para la descomposición matemática de las EEM obtenidas durante la decoloración del OG (capítulo 4), las longitudes de onda de análisis fueron acotadas a los siguientes intervalos: de 300 a 600 nm para el modo emisión y de 312 a 600 nm para el modo excitación.

El análisis de estas matrices se realizó utilizando entre 3 y 7 factores. El mejor compromiso entre calidad de ajuste y significado físico se obtuvo cuando se aplicó un

modelo PARAFAC de 4 factores cuya una falta de ajuste fue cercana al 5.6%. Los espectros de excitación y de emisión arrojados por este análisis pueden observarse en la figura 8.6, mientras que los correspondientes perfiles de concentración relativa en función del tiempo y del grado de decoloración se presentan en las figuras 8.7a y 8.7b, respectivamente.

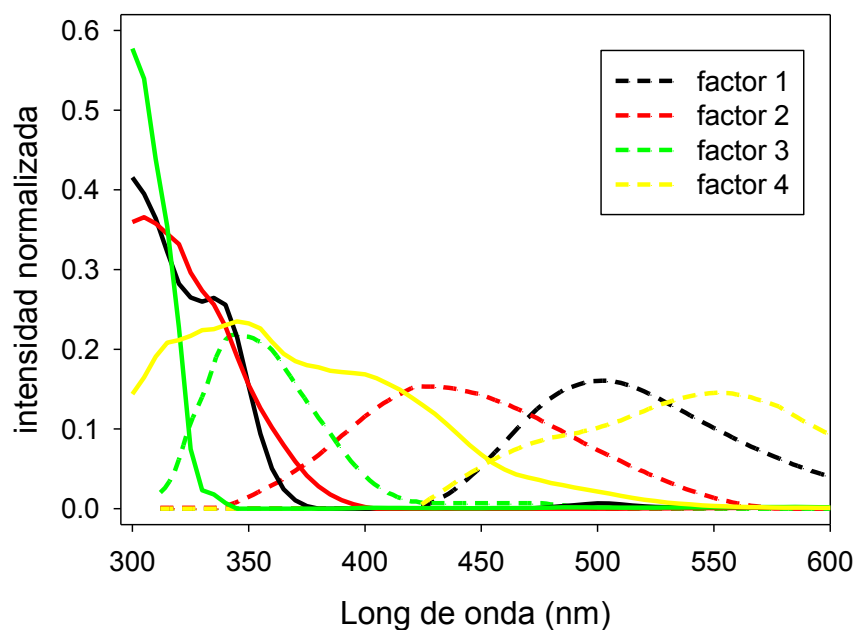


Figura 8.6. Espectros de excitación (línea sólida) y de emisión (línea punteada) predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del OG.

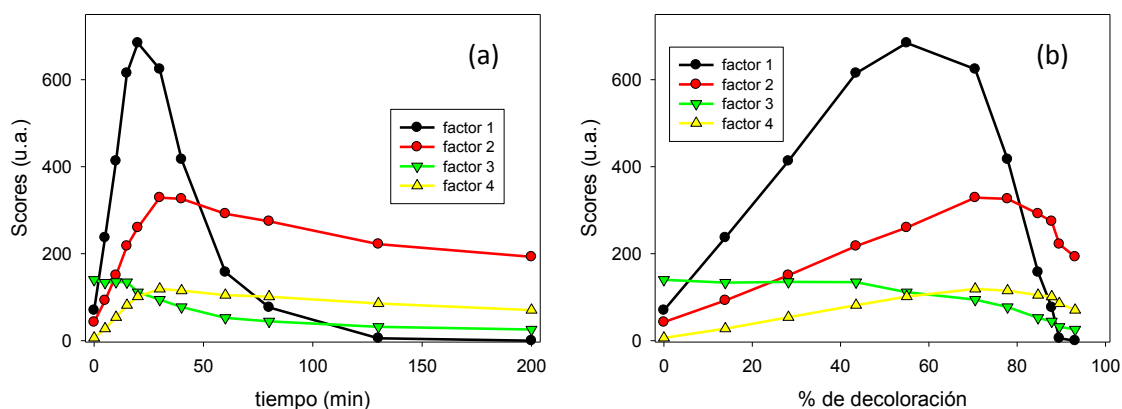


Figura 8.7. Perfiles de concentración (a) en función del tiempo (b) en función del grado de decoloración de los factores predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del OG.

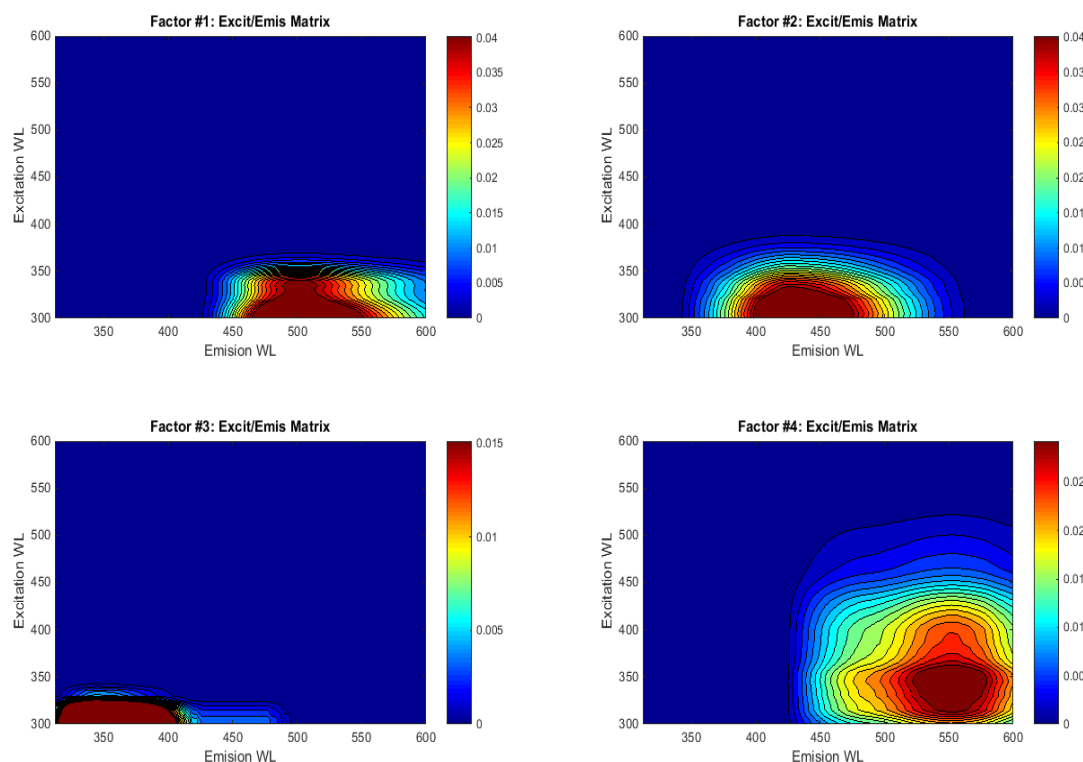


Figura 8.8: EEM de los factores estimados por PARAFAC para la cinética de degradación del OG

A partir de la comparación de las EEM graficadas en el capítulo 4 con las contribuciones obtenidas para a cada factor distintos tiempos de muestreo y las EEM de los factores reconstruidas a partir de los perfiles predichos (figura 8.8), podemos observar que el factor F3 se asemeja a la región de fluorescencia que presenta el sistema inicialmente ($Ex/Em \sim 290/350$ nm). Además, considerando su perfil de concentración, se podría asociar al factor F3 con colorante OG. La similitud del factor F3 de este estudio con el factor F1, obtenido en el análisis de factores en paralelo para las EEM correspondientes a la degradación de AB, en su comportamiento tanto cinético como espectrofluorimétrico sugiere que este factor podría corresponder a la emisión de la estructura fenil-azo que es común a ambos colorantes.

Los perfiles de la Figura 8.7 muestran que el factor F1 tiene un máximo aporte cuando han transcurrido 20 minutos de iniciada la decoloración, en concordancia con el rápido aumento inicial de la intensidad de fluorescencia observado para esta región espectral en el Capítulo 4. Por otro lado, los aportes de los factores F2 y F4 presentan escalas temporales más extendidas y muestran mayor relevancia cuando la decoloración es cercana al 95%. En este contexto, la rápida disminución de la

contribución del factor F1 y el lento decaimiento de la contribución del factor F2 permiten explicar el corrimiento hacia el azul de la región de emisión analizado en el Capítulo 4.

8.3.3 PARAFAC en la decoloración del AR

El análisis de las EEM correspondientes al estudio de decoloración de la AR (capítulo 4.), fue acotado a longitudes comprendidas entre 320 y 600 nm para la excitación y entre 340 y 600 nm para la emisión.

Para el análisis se utilizaron entre 3 y 8 factores, la mejor relación entre significado físico y calidad de ajuste se obtuvo cuando se realizó una descomposición basada en 5 factores. Esta correlación tuvo una falta de ajuste del 8.75%. Si bien, con 6 y 7 factores se observó una mejora en la calidad del ajuste, a medida que se incrementó el número contribuciones, los perfiles obtenidos fueron perdiendo significado desde el punto de vista físico. Cabe destacar que con un modelo de 8 factores el análisis directamente no alcanzó la convergencia. Por otro lado, con una cantidad de factores menor a 5, se observaron sustanciales aumentos en la falta de ajuste.

En la figura 8.9 pueden observarse los espectros de excitación y de emisión obtenidos con el modelo, mientras que los correspondientes perfiles de concentración en función del tiempo de reacción y del porcentaje de decoloración se presentan en las figuras 8.10a y 8.10b, respectivamente.

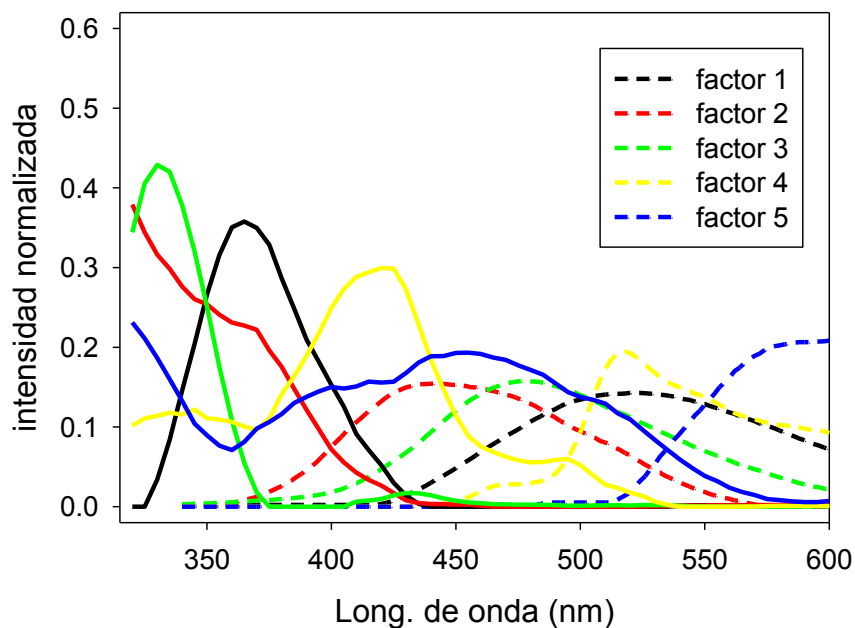


Figura 8.9: Espectros de excitación (línea sólida) y de emisión (línea punteada) predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del AR.

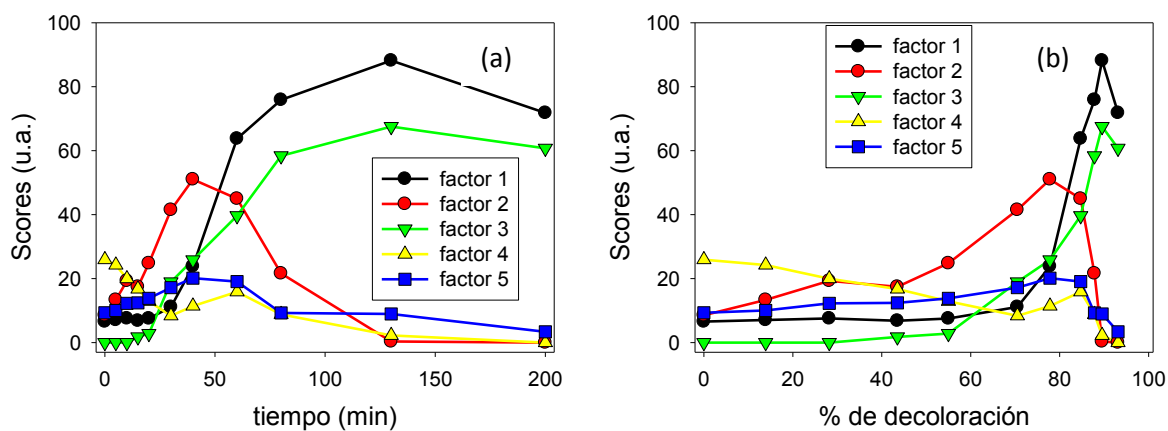


Figura 8.10: Perfiles de concentración (a) en función del tiempo (b) en función del grado de decoloración de los factores predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración del AR.

El análisis de los perfiles cinéticos presentados para cada factor en la figura 8.10 revela que para el tiempo inicial el factor F4 es el predominante, siendo sus perfiles de excitación y de emisión prácticamente coincidentes con los observados en las EEM tanto de la AR como de su complejo con hierro.

Por otro lado, los factores F2 y F5 tienen sus máximas contribuciones para la EEM correspondiente a los 45 minutos de iniciada la reacción. Además para esa escala de tiempo también son significativos los aportes de los factores F1 y F3, los cuales adquieren más relevancia luego de 120 minutos de tratamiento, tiempo en que se alcanzan niveles de decoloración cercanos al 100% (Figuras 8.10a y 8.10b).

Las regiones de emisión correspondientes a cada uno de los factores, que fueron construidas a partir de sus perfiles de excitación y emisión, se presentan en la Figura 8.11.

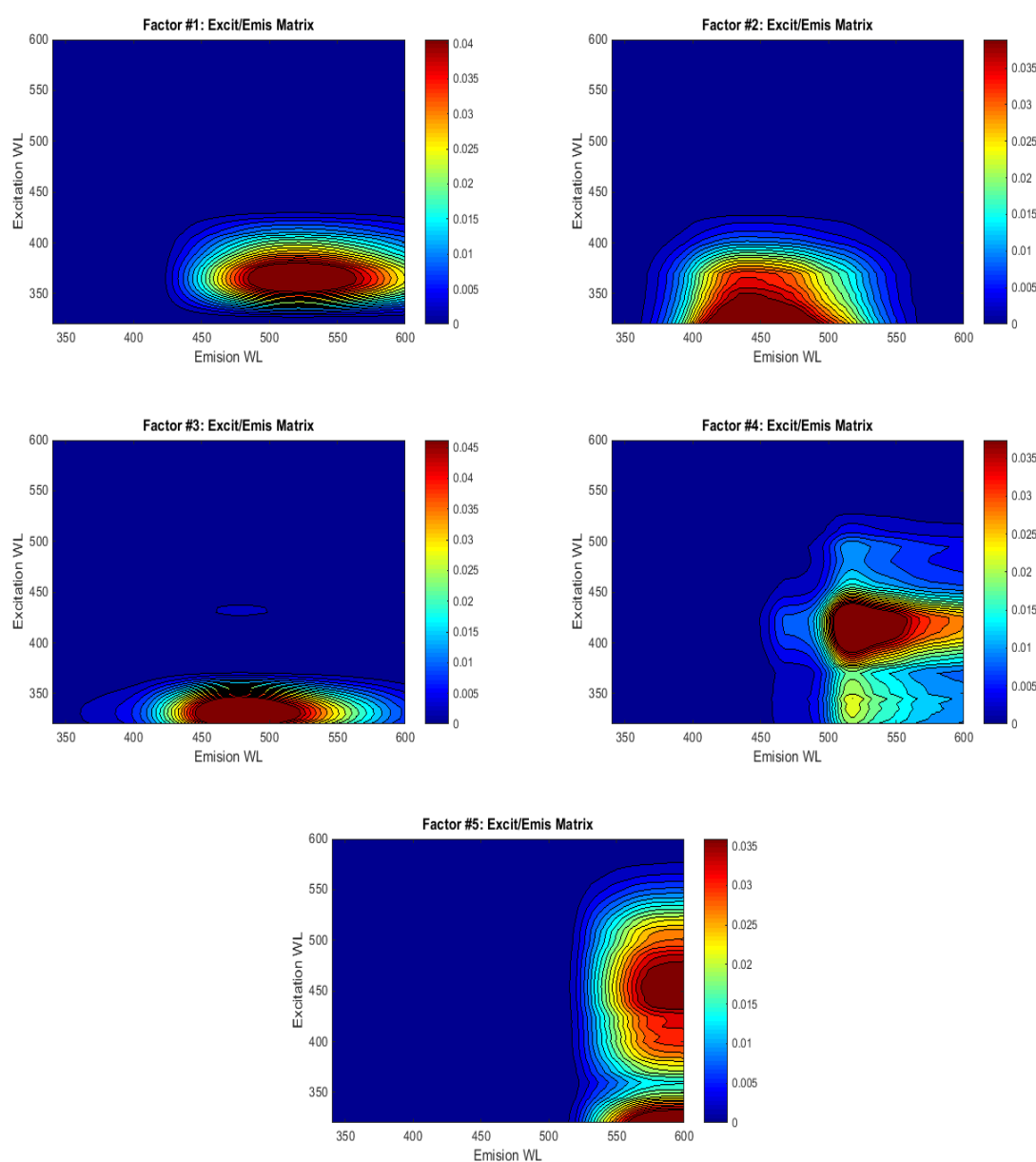


Figura 8.11: EEM de los factores estimados por PARAFAC para la cinética de degradación del AR

8.3.4 PARAFAC en la decoloración de la mezcla ternaria de los colorantes estudiados

Los rangos de muestreo de las EEM obtenidas durante la degradación de la mezcla triple estuvieron comprendidos entre 250 y 600 nm para la excitación y entre 300 y 750 nm para la emisión. A fin de facilitar la descomposición de las matrices con el algoritmo PARAFAC, dicho rango fue acotado a los rangos de longitudes de onda de 300 a 600 nm y de 326 a 600 nm, para los modos excitación y emisión, respectivamente.

El análisis de las EEM obtenidas durante la decoloración de la mezcla ternaria (sección 5.3.2.3 del capítulo 5), se realizó utilizando entre 4 hasta 8 factores. Siguiendo los criterios descritos anteriormente, el resultado óptimo se obtuvo para un modelo PARAFAC de 6 factores cuya falta de ajuste de 3,76%.

Los espectros de excitación y de emisión arrojados por el análisis se presentan en la figura 8.12, mientras que los correspondientes perfiles de concentración se muestran en las figuras 8.13a y 8.13b.

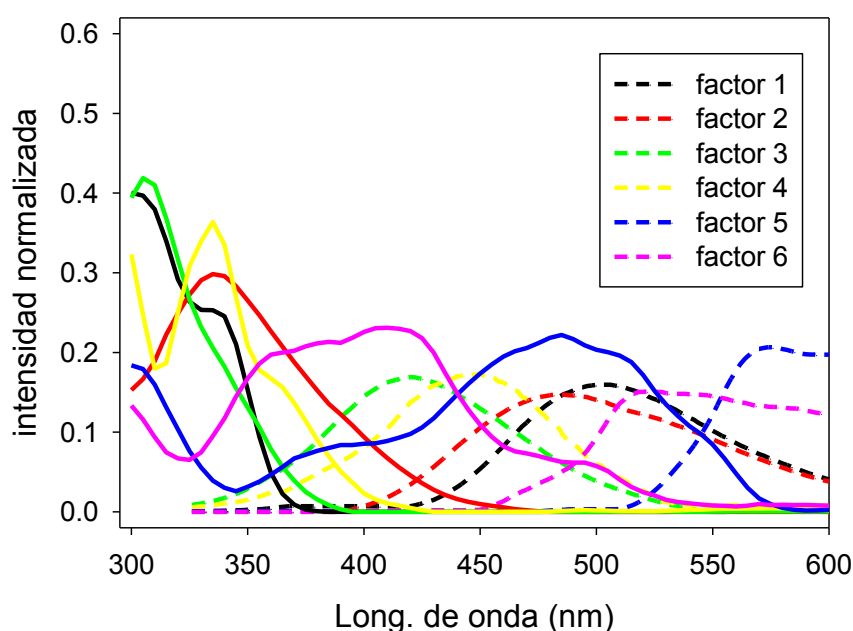


Figura 8.12: Espectros de excitación (línea sólida) y de emisión (línea punteada) predichos por PARAFAC para la cinética de decoloración de la mezcla de contaminantes estudiados.

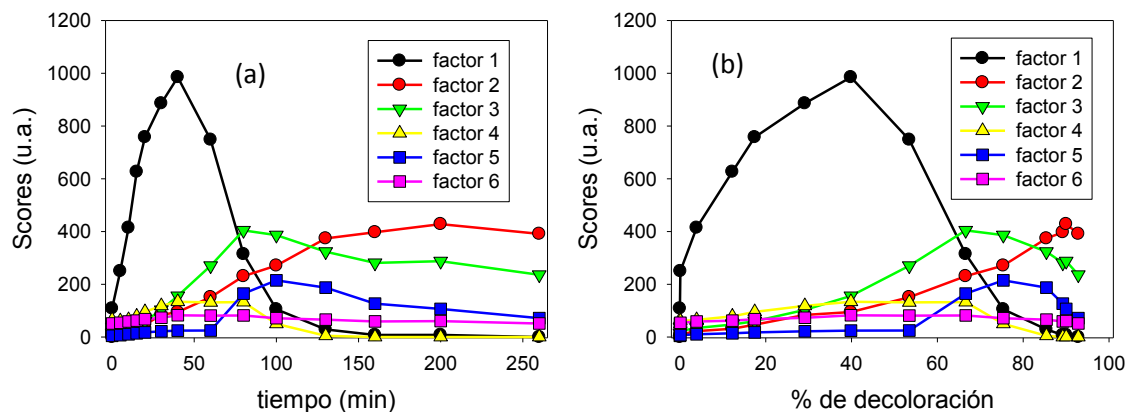


Figura 8.13. Perfiles de concentración (a) en función del tiempo (b) en función del grado de decoloración de los factores predichos por PARAFAC para la mezcla triple.

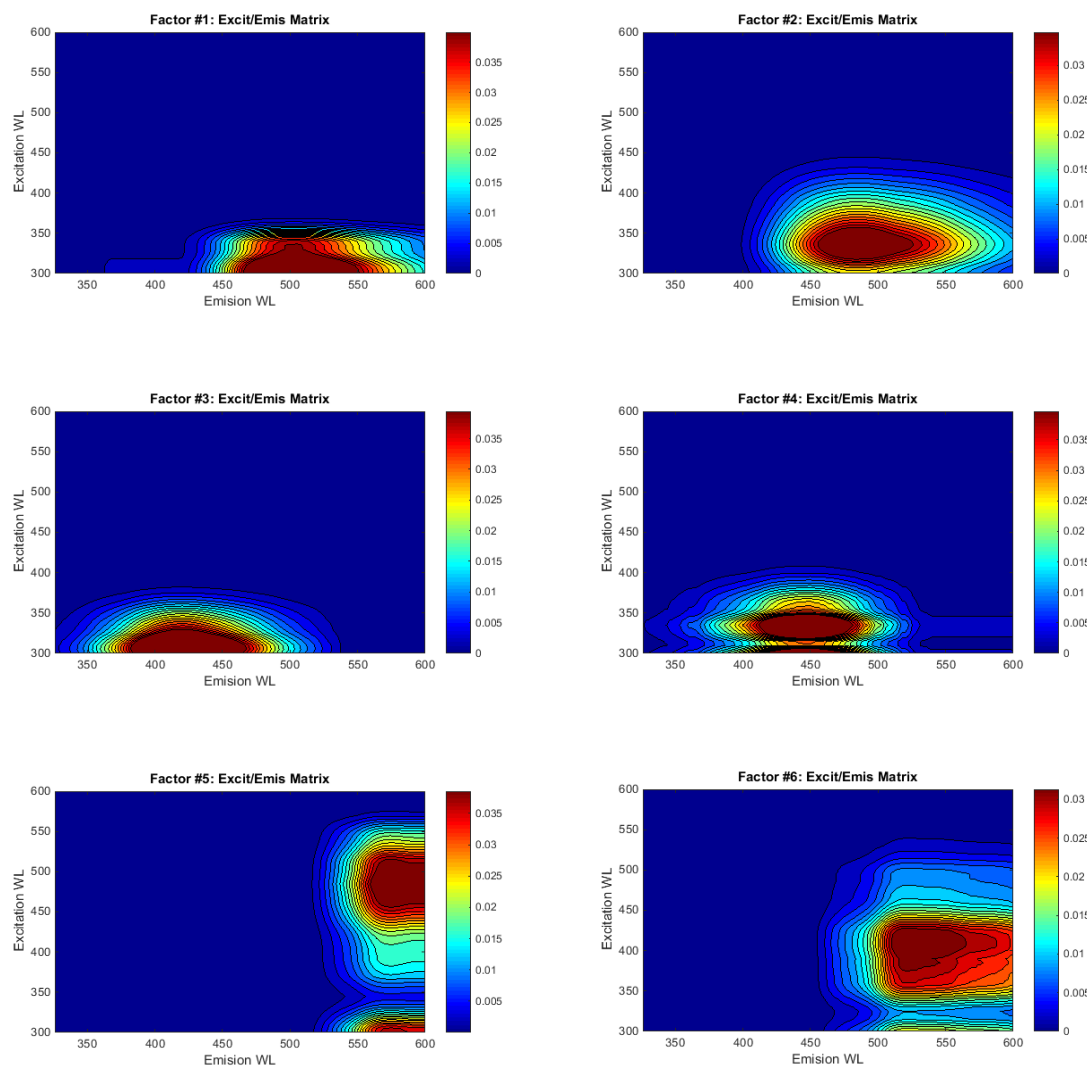


Figura 8.14: EEM de los factores estimados por PARAFAC

En la figura 8.13a, se observa que el factor F1 tiene su máxima contribución a los 40 minutos de iniciada la reacción y presenta una gran similitud con el factor F1 de la descomposición PARAFAC correspondiente al OG presentada anteriormente. El factor F2 posee un máximo de emisión cercano a los 480 nm y una máxima eficiencia de excitación cercana a los 340 nm. Conforme avanza la reacción de degradación de la mezcla triple, su contribución aumenta hasta llegar a un valor máximo luego de transcurridos 120 minutos de iniciada la reacción y por lo tanto podría asociarse a un producto tardío del tratamiento. Además, tanto el factor F2 como el factor F6, presentan similitudes con dos de los factores que aportan la mayor contribución a las matrices del AB (F2 y F4 del AB, respectivamente). Asimismo el factor F5, cuyo máximo de emisión se encuentra cercano a 570 nm y presenta excitación múltiple a 330 y 460 nm, es comparable con el factor F5 obtenido en el estudio de las EEM de la AR. La máxima contribución de este factor a las EEM correspondientes a la mezcla ternaria se obtiene cuando el grado de decoloración es cercano al 75% de decoloración (figura 8.13b). Por otro lado, el factor F3 tiene su máximo aporte luego de 80 minutos de iniciada la reacción, y presenta una emisión máxima cercana a los 420 nm para una excitación 310 nm. Este factor presenta cierta similitud con factor F2 obtenido por la aplicación del método PARAFAC sobre las matrices correspondientes al OG. Finalmente, el análisis de la figura 8.14 muestra que a pesar de que el factor F6 de la MT presenta similitudes en lo que respecta a su emisión con el factor F4 asociado a la decoloración del AB, presenta importantes diferencias en lo que respecta a los perfiles de excitación y por lo tanto no puede considerarse que estos factores representan especies con alto grado de similitud estructural.

8.4 Conclusiones

El análisis de factores en paralelo permitió, utilizando entre 4 y 6 factores, descomposiciones trilineales aceptables de las EEM correspondientes a todas cinéticas de decoloración estudiadas.

La comparación entre los factores F1 del AB y F3 del OG sugiere que la emisión de estos factores podría corresponder a la estructura 2-hydroxinaftilazo sustituida presente en ambos colorantes azoicos.

En general, los factores obtenidos en el análisis de la decoloración de la mezcla ternaria pudieron correlacionarse con los factores que surgen de la aplicación de esta metodología al análisis de la decoloración de cada uno de los contaminantes por separado.

La metodología EEM-PARAFAC permitió estimar no solo la influencia de diferentes fluoróforos sobre las matrices de excitación-emisión para un cierto tiempo de tratamiento sino que, además, posibilitó la resolución de sustancias fluorescentes que persisten luego de alcanzar decoloraciones prácticamente completas. Estas contribuciones pueden asociarse a estructuras aromáticas que no pueden ser evidenciadas por espectroscopia de absorción, pero que representan un peligro potencial puesto que podrían contribuir sustancialmente a la toxicidad de las mezclas de reacción obtenidas en las etapas avanzadas de tratamiento.

8.5 Bibliografía

1. Andersen, C. M. & Bro, R. Practical aspects of PARAFAC modeling of fluorescence excitation–emission data. *J. Chemom.* **17**, 200–215 (2003).
2. Nahorniak, M. L., Cooper, G. A., Kim, Y. & Booksh, K. S. Three- and four-way parallel factor (PARAFAC) analysis of photochemically induced excitation – emission kinetic fluorescence spectra. *Analyst* **130**, 85–93 (2005).
3. Murphy, K. R., Stedmon, C. A., Graeber, D. & Bro, R. Fluorescence spectroscopy and multi-way techniques. PARAFAC. *Anal. Methods* **5**, 6557 (2013).
4. Stedmon, C. A., Markager, S. & Bro, R. Tracing dissolved organic matter in aquatic environments using a new approach to fluorescence spectroscopy. *Mar. Chem.* **82**, 239–254 (2003).
5. Bro, R. The N-way Toolbox. <http://www.models.life.ku.dk/> (2001).
6. Harshman, R. A. & Lundy, M. E. PARAFAC: Parallel factor analysis. *Comput. Stat. Data Anal.* **18**, 39–72 (1994).
7. Tauler, R. & de Juan, A. *Fundamentals and Analytical Applications of Multiway Calibration. Data Handling in Science and Technology* **29**, (Elsevier, 2015).

Conclusiones generales

Los resultados y las conclusiones más importantes del presente trabajo de tesis se resumen a continuación:

a) Estudios cinéticos

El comportamiento general tanto de los sistemas tipo-Fenton como foto-Fenton muestra que las velocidades medias de decoloración de los contaminantes estudiados y de sus mezclas aumentan con la concentración de catalizador, disminuyen con el incremento de la carga orgánica y presentan concentraciones óptimas de H_2O_2 que dependen de la carga orgánica total.

Además de las tendencias generales, que también han sido observadas para otros sistemas que involucran procesos Fenton, los resultados del presente trabajo de tesis revelan que las propiedades particulares de los contaminantes pueden tener una influencia notable tanto en la forma de los perfiles cinéticos como en las escalas de tiempo necesarias para alcanzar grados de conversión satisfactorios. Para los colorantes estudiados, los resultados cinéticos obtenidos en sistemas foto-Fenton pueden racionalizarse considerando las contribuciones relativas de los siguientes factores: i- la inactivación del catalizador por complejación, ii- la capacidad de generar intermediarios reductores que incrementen la tasa de regeneración de Fe(II), y iii- los efectos de filtro interno que reducen la contribución de procesos fotoinducidos.

En contraste con lo observado para los sistemas tipo-Fenton operados en ausencia de radiación, el tratamiento de los colorantes en sistemas foto-Fenton permite alcanzar grados de mineralización satisfactorios.

b) Espectroscopías y análisis multivariado

El desarrollo e implementación, en el marco del presente trabajo de tesis, de nuevas restricciones para el algoritmo MCR-ALS permitió un análisis más robusto de las hipermatrices asociadas a los ensayos de decoloración. Gracias a la aplicación de estas nuevas restricciones, se logró una reducción de los problemas de acoplamiento espectral generalmente encontrados en la resolución de sistemas complejos.

Los perfiles de degradación estimados con la metodología MCR-ALS modificada por las nuevas restricciones resultaron muy satisfactorios, ya que presentaron altos grados de similitud con los perfiles medidos por HPLC, incluso para las mezclas de colorantes. Esto representa una herramienta de enorme potencial para el monitoreo on-line de procesos de tratamiento. Además, debido a su bajo costo, facilidad de implementación y velocidad de resolución, esta metodología podría aplicarse para el control y automatización de sistemas de tratamiento de efluentes.

A partir del análisis de factores en paralelo se obtuvieron descomposiciones aceptables de las EEM correspondientes a todas cinéticas de decoloración estudiadas. En general, los factores obtenidos para la decoloración de la mezcla ternaria pudieron correlacionarse con los factores que surgen de la aplicación de esta metodología al análisis de la decoloración de cada uno de los contaminantes por separado. En consecuencia, los estudios de las matrices de fluorescencia representan una valiosa herramienta analítica para complementar los métodos tradicionalmente empleados para caracterizar la evolución temporal de mezclas de reacción en los Procesos Avanzados de Oxidación.

La metodología EEM-PARAFAC no solo permitió evaluar las contribuciones de diferentes fluoróforos a las matrices de excitación-emisión para diferentes tiempos de tratamiento, sino que además posibilitó la resolución de factores fluorescentes que persisten luego de alcanzar decoloraciones prácticamente completas. Estas contribuciones pueden asociarse a estructuras aromáticas que no pueden ser evidenciadas por espectroscopia de absorción UV-visible, pero representan un peligro potencial puesto que podrían contribuir sustancialmente a la toxicidad de las mezclas de reacción obtenidas en las etapas avanzadas del tratamiento.

Anexo I. Conjunto de Interfaces gráficas para la implementación del algoritmo MCR-ALS con las restricciones tradicionalmente empleadas

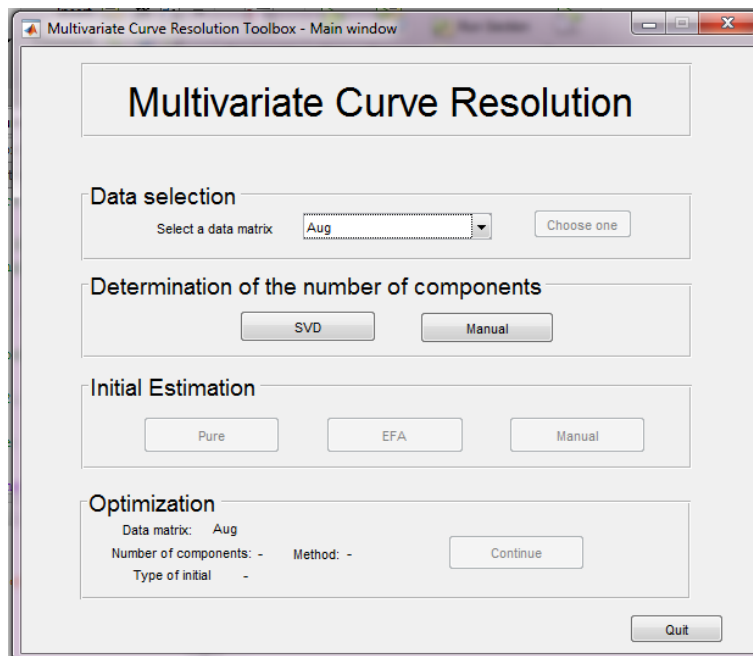


Figura 1: interfaz gráfica inicial donde se selecciona la matriz de datos D a analizar y la metodología para determinar el número de contribuciones y la estimación inicial.

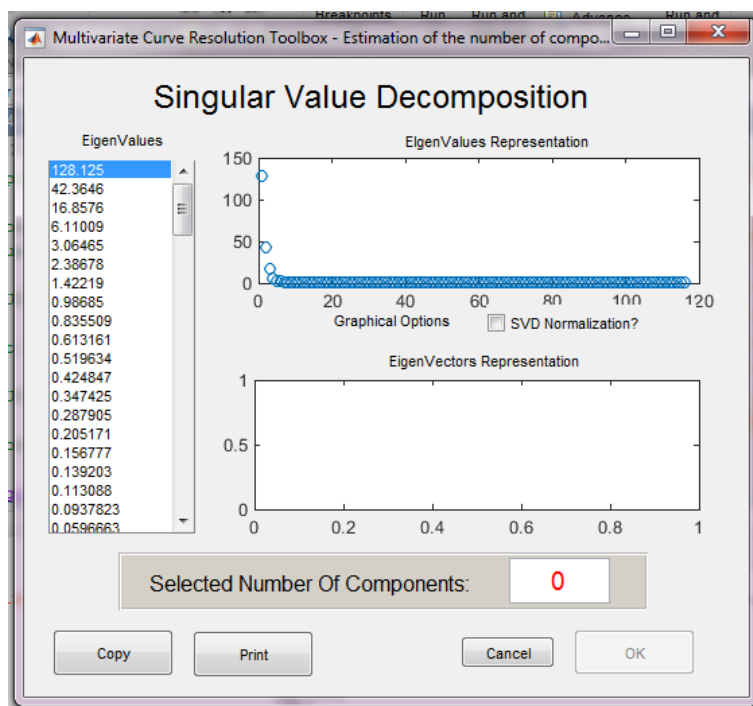


Figura 2: interfaz gráfica para la estimación del número de contribuciones con SVD

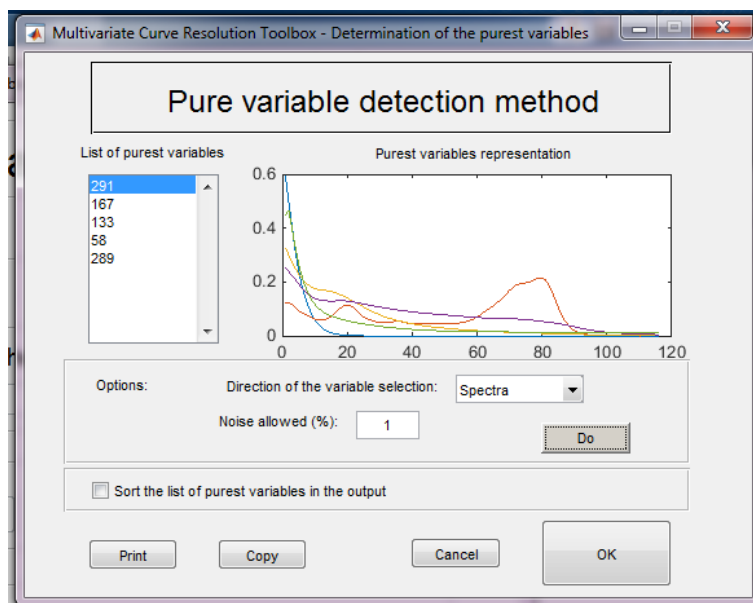


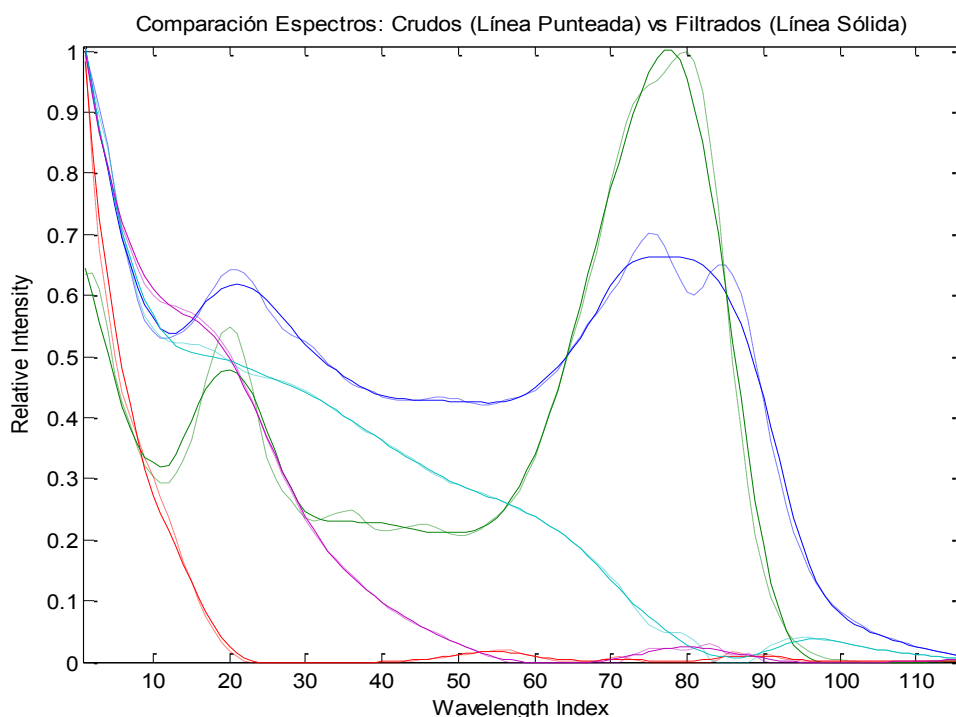
Figura 3: interfaz gráfica para la estimacion inicial de la matriz de espectros utilizando SIMPLISMA

Figura 4: interfaz gráfica donde se aplican las restricciones clásicas de la algoritmo MCR-ALS

Anexo II. Suavización de los perfiles utilizando la metodología de filtros de Savitzky-Golay

Para el suavizado de los perfiles espectrales o cinéticos se utilizó la metodología de filtros de Savitzky-Golay (SG). Este algoritmo se basa en el ajuste por mínimos cuadrados de un número específico de datos, que rodean a cada punto de la señal a filtrar, a un polinomio. El grado de suavización está controlado por el número de datos considerados como parte del entorno del punto considerado y por el orden del polinomio. Con este método, a medida que se incrementa el ancho de intervalo del desarrollo o se selecciona un orden más bajo para el polinomio, se obtiene un mayor nivel de suavizado. Con el objeto de eliminar los problemas de borde, que generalmente se presentan en los extremos del intervalo de filtración, se emplearon tanto funciones para la extrapolación como para el ajuste del ancho del intervalo y/o del orden de filtración.

A modo de ejemplo, en la siguiente figura se muestra el efecto de la aplicación del filtro desarrollado a un conjunto de espectros representativos



Cabe destacar que, tal como se muestra en el Capítulo 7, las funciones desarrolladas permiten la aplicación selectiva del método de filtración sólo para algunas de las especies. Además, la interfaz mediante la cual se implementan estas restricciones permite ensayar intervalos de diferentes radios y órdenes variables para el polinomio filtrante.

Anexo III. Condiciones experimentales de la mezcla binaria AB & AR

designación	colorantes	[colorante] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	[Fe(III)] /mM	T /°C	pH
AB	AB	0.162	5	0.12	24	2.95
AR	AR	0.162	5	0.12	24	3.01
88	AB	0.162	5	0.05	24	2.98
	AR	0.162				
89	AB	0.162	5	0.12	24	2.96
	AR	0.162				
90	AB	0.162	5	0.17	24	2.95
	AR	0.162				
91	AB	0.162	5	0.25	24	2.94
	AR	0.162				
92	AB	0.162	25	0.12	24	2.99
	AR	0.162				
93	AB	0.162	15	0.12	24	3.03
	AR	0.162				
94	AB	0.162	100	0.12	24	3.02
	AR	0.162				
95	AB	0.162	50	0.12	24	2.98
	AR	0.162				
+0	AB	0.326	5	0.12	24	2.94
	AR	0.162				
+1	AR	0.323	5	0.12	24	3.02
	AB	0.162				

Anexo IV. Condiciones experimentales de la mezcla ternaria

designación	colorantes	[colorante] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	[Fe(III)] /mM	T /°C	pH
AB	AB	0.162	5	0.12	24	2.95
OG	OG	0.162	5	0.12	24	3.04
AR	AR	0.162	5	0.12	24	3.01
10	OG	0.162	5	0.12	24	2.89
	AR	0.162				
	AB	0.162				
11	OG	0.162	10	0.12	24	3.01
	AR	0.162				
	AB	0.162				
12	OG	0.162	25	0.12	24	2.98
	AR	0.162				
	AB	0.162				
13	OG	0.162	50	0.12	24	2.96
	AR	0.162				
	AB	0.162				
14	OG	0.162	100	0.12	24	3.02
	AR	0.162				
	AB	0.162				
15	OG	0.162	500	0.12	24	3.03
	AR	0.162				
	AB	0.162				
16	OG	0.162	1000	0.12	24	2.99
	AR	0.162				
	AB	0.162				
17	OG	0.162	10	0.10	24	2.94
	AR	0.162				
	AB	0.162				

designación	colorantes	[colorante] /mM	[H ₂ O ₂] /mM	[Fe(III)] /mM	T /°C	pH
18	OG	0.162	10	0.20	24	3.02
	AR	0.162				
	AB	0.162				
19	OG	0.162	10	0.30	24	3.05
	AR	0.162				
	AB	0.162				
20	OG	0.162	250	0.12	24	2.97
	AR	0.162				
	AB	0.162				
21	OG	0.162	10	0.05	24	2.88
	AR	0.162				
	AB	0.162				
22	OG	0.162	10	0.05	24	3.01
	AR	0.162				
	AB	0.162				
23	OG	0.162	10	0.05	24	2.98
	AR	0.162				
	AB	0.162				
24	OG	0.162	10	0.05	24	3.03
	AR	0.162				
	AB	0.162				